

CONTRIBUTION A L'ETUDE IMMUNOLOGIQUE
DES BABESIOSES.

ESSAIS D'IMMUNISATION
EN MATIERE DE BABESIOSE CANINE.

THÈSE

présentée

A L'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD de LYON

(Médecine - Pharmacie)

et soutenue publiquement le 18 Février 1981

pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Michel DUBOR

né le 7 Novembre 1956

à LYON 6^e (Rhône)





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553407_0014

CONTRIBUTION A L'ETUDE IMMUNOLOGIQUE
DES BABESIOSES.

ESSAIS D'IMMUNISATION
EN MATIERE DE BABESIOSE CANINE.

THÈSE

présentée

A L'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD de LYON

(Médecine - Pharmacie)

et soutenue publiquement le 18 Février 1981

pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Michel DUBOR

né le 7 Novembre 1956

à LYON 6° (Rhône)



CONTRIBUTION A L'ÉTUDE IMMUNOLOGIQUE
DES BARESIOSSES
ESSAIS D'IMMUNISATION
EN MATIÈRE DE BARESIOSSE CANINE

THÈSE

présentée

A L'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD DE LYON

(Médecine - Pharmacie)

et soumise publiquement le 15 février 1961

pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

MICHEL MURISSET

né le 12 mai 1928

(Lyon)



2-12-1960

ETAT DES MEMBRES DU CORPS ENSEIGNANT EN FONCTION A L'ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Directeur : Professeur Ph. COTIEREAU

C H A I R E S	Professeurs	Professeurs sans chaire	Maîtres de conférences 11 postes	Maîtres Assistants Agrégés	Maîtres Assistants 20 postes	Assistants
Alimentation	-	M. JEAN-BLAIN	-	-	-	M. GRANCHER
Anatomie	M. BARONE	-	-	-	M. DEMOIX	M. DELTOUR
Chirurgie	M. COULON	M. LE NIHOUANEN	-	-	M. FAU	M. DELAC
Histologie - Anatomie pathologique	M. TISSEUR	M. CASTELLU	-	-	-	Mme ~~GRANCHER~~ G. RANCHER
Hygiène et industrie des aliments d'origine animale	M. CHANTEGRELET	-	-	-	M. DEMONT	M. DROMICHY
Maladies contagieuses	M. JOUBERT	M. PRAVE	-	-	M. CHONEL	M. DUCLOS
Parasitologie	M. EUZEBY	-	M. GEVREY	-	Mme CHAUVÉ	M. NGO TAN HON
Pathologie générale - Microbiologie - Immunologie	M. OUDAR	-	M. RICHARD	-	M. EUZEBY	M. GUERIN
Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour	M. COTIEREAU	-	Mme BRUCERE	-	-	M. THIER
Pathologie médicale des équidés et des carnivores	M. FONTAINE	M. LAPRAS	-	M. LEGEAY	-	M. BOUVIER
Pathologie de la reproduction	M. BERTRAND	M. DESCHANEL	-	-	Mme RACHAIL	M. PEPIN
Pharmacie-Toxicologie	M. LORQUE	-	M. KECK	-	M. JAUSSAUD	Mme PEPIN
Physiologie	M. BOST	M. BOIVIN	-	-	-	M. THIEBAULT
Physique-Chimie	M. DELATOUR	-	-	-	M. GARNIER	Mlle MARTIN
Zootchnie	M. FROGET	-	M. FRANCK	-	Mlle COURSAT	-
C.F.I.S.V.	M. FLACHAT	-	-	-	-	-
	14	7	5	1	10	14

Maîtres Assistants : 20 postes budgétaires (15 postes "organiques" soit 1 par Chaire

+ 5 postes "pool commun").

A ma femme

A mon fils, Guillaume

A mes parents

A toute ma famille

A tous mes amis

A Monsieur le Professeur J. COUDERT
Professeur de Parasitologie et Pathologie exotique
à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon

Nous le remercions du grand honneur
qu'il nous fait d'accepter la présidence
de ce jury.

Qu'il veuille trouver ici l'expression
de notre respectueuse reconnaissance.

A Monsieur le Professeur J. EUZEBY
Professeur de Parasitologie à L'Ecole Nationale
Vétérinaire de Lyon

Nous le remercions pour l'aide constante
et efficace qu'il nous a apporté tout au
long de la réalisation de ce travail.

Nous aimerions qu'il trouve ici l'expression
de notre profond respect et de toute notre
gratitude.

A Monsieur J. GEVREY
Maître-Assistant agrégé de Parasitologie à l'Ecole
Nationale Vétérinaire de Lyon

qui a bien voulu juger notre travail.
Qu'il veuille bien trouver ici le témoignage
de notre sincère reconnaissance.

Au Docteur Y. MOREAU

de l'Institut Français de la Fièvre Aphteuse de Lyon

qui nous a inspiré ce travail et nous a été
d'une aide précieuse dans sa réalisation.

Qu'il soit assuré de notre profonde sympathie.

A Madame M. GAUTHEY

du Laboratoire de Parasitologie de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Lyon

pour son aide quotidienne et dévouée sur le
terrain comme au laboratoire.

Qu'elle voie en cet ouvrage la récompense
de ses efforts et l'assurance de notre
très sincère amitié.

A tout le Laboratoire de Parasitologie de l'Ecole
Nationale Vétérinaire de Lyon.

- P L A N D E T H E S E -

I N T R O D U C T I O N

P R E M I E R E P A R T I E : LES BABESIOSES.

RAPPELS NOSOLOGIQUES, AGENT PATHOGENE ET ASPECT IMMUNOLOGIQUE DE L'INFECTION

I - RAPPELS NOSOLOGIQUES

- A - Epidémiologie
- B - Etiologie
- C - Etude clinique et anatomique
- D - Traitement et prophylaxie

II - L'AGENT PATHOGENE

III - LE POINT DE VUE IMMUNOLOGIQUE

IV - CONCLUSIONS

D E U X I E M E P A R T I E : ESSAIS COMPARATIFS DE LA CHIMIO-IMMUNISATION ET DE L'IMMUNISATION PASSIVE DANS LA PROPHYLAXIE DE LA BABESIOSE CANINE.

I - INTRODUCTION

II - PROCEDES DE CULTURE *IN VITRO* DE *BABESIA CANIS*

III - PREMIERE EXPERIMENTATION : ANNEE 1978

- A - Protocole expérimental
- B - Résultats
- C - Discussion
- D - Conclusion

IV - DEUXIEME EXPERIMENTATION : ANNEE 1979

- A - Protocole expérimental
- B - Résultats
- C - Discussion
- D - Conclusion

C O N C L U S I O N S G E N E R A L E S

- I N T R O D U C T I O N -

Les babésioses se définissent comme des maladies parasitaires déterminées par des Protozoaires parasites du genre *Babesia*, transmises par des Ixodidés et affectant les hématies de très nombreux mammifères domestiques et sauvages.

Ces affections, anciennement appelées piroplasmoses, doivent leur nom à BABES qui les a découvertes en 1888, en Roumanie.

Les babésioses se traduisent cliniquement par un syndrome d'anémie hémolytique sur un tableau général fébrile dont l'issue est souvent fatale. L'importance qualitative et quantitative de ces affections est considérable étant donné leur répartition géographique mondiale, la gravité du tableau clinique et la multitude des espèces affectées. Néanmoins les méthodes de diagnostic ont fait, ces dernières années, d'énormes progrès : le diagnostic clinique, devenu parfois de plus en plus complexe en raison de l'existence de formes cliniques atypiques, a fait place à un diagnostic expérimental d'abord direct par mise en évidence du parasite sous microscope, puis, récemment, indirect par l'utilisation de réactions sérologiques.

La précocité du diagnostic des babésioses permet, dans la mesure où les conditions économiques l'autorisent, d'envisager un traitement dont l'efficacité prouvée n'exclut pas toutefois les rechutes éventuelles et n'enlève rien aux lésions organiques occasionnées par le parasite, en admettant d'ailleurs que le produit n'aggrave pas lui-même ces lésions.

Ce travail a donc pour but de rechercher un moyen de soustraire l'organisme animal à l'action pathogène du parasite en lui conférant une immunité anti-babésienne, les moyens d'immunisation constituant précisément l'objet principal de cette étude.

Nous nous proposons donc ici de trouver un moyen de prophylaxie médicale individuelle contre les babésioses, en prenant comme modèle d'étude la babésiose canine.

Deux méthodes peuvent être envisagées *a priori* :

- une immunisation active : c'est la chimio-immunisation, méthode consistant en l'infestation de chiens par une souche virulente de *Babesia* dans des conditions variables restant à définir, sous couvert d'une chimioprévention spécifique.

- une immunisation passive : par inoculation de sang ou autres liquides biologiques prélevés sur des chiens infectés à des chiens indemnes.

Le degré d'immunisation des chiens utilisés dans ces expérimentations sera apprécié d'une part qualitativement par l'étude du comportement de ces chiens vis-à-vis d'une ré-infection, d'autre part quantitativement par l'évolution de la parasitémie et des taux sérologiques des individus infectés.

Nous chercherons à déterminer, dans la mesure où l'immunité existe en matière de babésiose, quelle est sa nature : est-elle à médiation humorale ou cellulaire ou encore à médiation double ?

Des prélèvements sanguins, réalisés à intervalles réguliers sur les chiens objets de l'expérimentation, seront analysés à l'IFFA-Mérieux au moyen de différentes réactions immunologiques.

Dans une première partie, après avoir rappelé les caractères principaux de la babésiose canine en France et de son agent pathogène, nous nous attacherons à l'aspect immunologique de l'affection, qui nous permettra de faire le point sur la question, avant d'aborder la partie réellement expérimentale de cette étude qui constituera le deuxième paragraphe.

Le protocole expérimental comportera trois grandes parties :

- Primo-infection de chiens neufs (c'est-à-dire immunologiquement vierges en matière de babésiose);

- Réinfection de ces mêmes chiens quelques mois plus tard ;
- Essai d'immunisation de chiens neufs par injection de plasma et autres liquides biologiques des chiens précédemment infectés et vérification de l'immunité passive ainsi conférée par réinfection ultérieure de ces chiens.

Enfin, nous tenterons de répondre, en conclusion, à la question : "Peut-on espérer provoquer expérimentalement une immunité en matière de babésiose canine ?".

- P R E M I E R E P A R T I E -

LES BABESIOSES : RAPPELS NOSOLOGIQUES, AGENT PATHOGENE
ET ASPECT IMMUNOLOGIQUE DE L'AFFECTION

I - RAPPELS NOSOLOGIQUES

A - Epidémiologie

B - Etiologie

C - Etude clinique et anatomique

D - Traitement et prophylaxie

I. RAPPELS NOSOLOGIQUES DES BABESIOSES

Le but de ce travail n'est pas de décrire la maladie *in extenso* sous tous ses aspects, cependant quelques rappels épidémiologiques, cliniques, anatomiques, thérapeutiques et prophylactiques semblent nécessaires pour évaluer l'importance tant qualitative que quantitative de la maladie, et montrer à quel point une prophylaxie médicale individuelle serait souhaitable pour diminuer l'incidence de l'affection sur le cheptel français.

A - Epidémiologie

1 - Carte épidémiologique



Les babésioses sont des maladies cosmopolites. En ce qui concerne la babésiose canine, la France est affectée dans la quasi-totalité de ses départements ; notons cependant que, d'après le compte rendu d'une enquête épidémiologique sur l'importance et la répartition de la babésiose canine en France parue dans la revue "l'animal de compagnie", il apparaît que toutes les régions ne sont pas infectées de façon identique. La graphique précédent montre à ce propos, que, dans notre pays, le taux d'infection peut aller selon les régions, de deux ou trois cas par an et par clinique vétérinaire, à plus de trois cent cas avec deux grands foyers centrés respectivement sur Lyon et Bordeaux.

2 - Moment d'apparition

La babésiose est une maladie saisonnière dont le caractère annuel périodique est parfois masqué par des rechutes. Les facteurs influençant l'apparition de la maladie sont d'ailleurs différents selon les régions considérées :

- Dans les régions circumméditerranéennes, les saisons ont peu d'influence sur l'incidence de la babésiose, étant donné le petit nombre de cas constatés au cours de l'année : les époques correspondant aux grandes migrations estivales semblent alors compter davantage.

Ailleurs, la maladie apparaît à des saisons différentes selon la région :

- Ariège, Haute-Garonne : principalement au printemps et en automne.

- Périmètre lyonnais : tout au long de l'année, avec toutefois une incidence maximale au printemps et en automne.

- Est de la France : la plupart des cas sont constatés en automne surtout, avec cependant un pic en novembre.

- Nord de la France : essentiellement de juillet à octobre, sur des chiens en transit (congés, chasse).

- Normandie : surtout à la fin de l'été et au début de l'automne.

- Bretagne, Finistère : toute l'année, même en hiver, avec des pointes au printemps et en automne.

- Sud-Ouest, région bordelaise : surtout en hiver et au printemps ; rares en automne et pratiquement absentes en été.

- Centre de la France : pendant les saisons intermédiaires, jamais l'hiver.

- Région parisienne : deux poussées par an principalement.

Il apparaît néanmoins que l'importance de l'endémie babésienne n'est pas obligatoirement proportionnelle à l'importance de la population acarienne et qu'un très grand nombre de facteurs intervient probablement sans que l'on ait encore pu mettre en évidence leur rôle de façon précise.

3 - Type épidémiologique

Le type épidémiologique, en matière de babésiose, est lié à l'écologie des tiques, des *Babesia* et des animaux réceptifs, et c'est l'action conjuguée de ces trois facteurs qui donne à la babésiose son "profil épidémiologique".

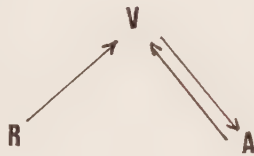
En France, ce sont des affections enzootiques qui peuvent néanmoins prendre une allure épizootique lorsqu'un individu sain est introduit par exemple dans une population infectée. Ce sont généralement des maladies peu extensives qui restent généralement localisées dans les foyers où vivent les tiques vectrices mais il convient cependant de remarquer que la situation épidémiologique n'est pas stationnaire dans tous les départements français ; selon un compte rendu de la Conférence des Vétérinaires Spécialistes des Petits Animaux, l'endémie dans tout le périmètre lyonnais est en pleine progression et la situation épidémiologique dans le périmètre bordelais est stationnaire, parfois même en légère augmentation.

4 - Schéma épidémiologique

Les babésioses sont des maladies à transmission vectorielle dont les vecteurs sont des Ixodidés appelés vulgairement tiques : à chaque espèce animale correspondent des tiques vectrices particulières, bien définies mais aucune tique n'est spécifique d'une espèce animale donnée.

En matière de babésiose :

- la victime (A) est l'animal atteint de babésiose,
- le vecteur (V) est la tique vectrice de la *Babesia* pathogène,
- quant au réservoir (R), son existence est discutée : certains animaux particulièrement résistants peuvent-ils héberger des *Babesia* sans en souffrir ? Si cela est réellement le cas, il semble bien que ces animaux aient alors une parasitémie trop faible pour assurer l'infection des tiques.



Mais nous nous bornerons à l'étude des tiques vectrices et plus précisément celles concernant l'espèce canine.

* Nomenclature - Taxonomie

Les tiques appartiennent à la famille des Ixodidés et au sous-ordre des *Ixodoidea* lui-même inclus dans l'ordre des acariens.

Chez le chien, les tiques appartiennent à trois genres :

- . *Ixodes*
- . *Dermacentor*
- . *Rhipicephalus*.

En fait, seules les tiques du genre *Dermacentor* et du genre *Rhipicephalus* représentées principalement par les espèces *D. Reticulatus* et *Rh. sanguineus* sont trouvées le plus fréquemment sur le chien et ont un rôle certain dans la transmission de la babésiose canine.

* Morphologie

Dans un but de simplification, nous ne donnerons que les caractères morphologiques des genres *Dermacentor* et *Rhipicephalus* qui constituent les éléments de base de la taxonomie.

- Caractères d'ordre :
leur corps est d'une seule pièce, possède quatre paire de pattes ; ils sont dépourvus de mandibules mais possèdent des chélicères. On reconnaît un *gnathosoma* et un *idiosoma*.
- Caractères de sous-ordre :
les pédipalpes ne sont pas terminées par une griffe, les stigmates sont placés postérieurement, entourés d'un pérित्रème (métastigmates). Les organes de fixation sont très développés, comprenant un hypostome pourvu de dents ventrales, des chélicères en harpon, qui leur confèrent des fonctions de parasites.
- Caractères de famille :
les stigmates sont placés en arrière des *coxa* IV et le tégument présente un écusson dorsal : ce sont des "tiques dures".
- Caractères liés au sexe :
l'écusson dorsal est développé chez le mâle ; il l'est peu chez la femelle ce qui permet son gorgement lors de la prise du repas sanguin.
- Caractère de genre :
 - . *Dermacentor* : brévirostre, *metastriata*, *capitulum* rectangulaire, il possède des yeux, les mâles ont des *coxa* IV énormes.
 - . *Rhipicephalus* : brévirostre, *metastriata*, *capitulum* hexagonal ; les mâles ont des *coxa* IV de même taille que les autres.

* Anatomie

Il est à remarquer ici, dans le cadre des relations constitution - mode de vie, la présence, annexées au tube digestif, de glandes salivaires à propriétés hémolysantes ; on trouve les Sporozoaires dans les glandes salivaires des tiques infectées : ceci est en relation avec le mode de nutrition hématophage de ces Ixodidés et leur rôle dans la transmission des babésioses.

* Biologie

- Habitat : il est double ; libre et parasitaire selon le moment de la vie de la tique.

- En ce qui concerne la vie libre, l'écologie de la tique est varibale :

- . *Rhipicephalus sanguineus* est domestique ou péri-domestique (niches, chenils, habitations humaines...) elle pullule dans la région méditerranéenne ; c'est une tique des régions sèches.

- . *Dermacentor reticulatus* vit aussi bien dans des biotopes ruraux (prairies, haies, landes, bois) que dans des biotopes humanisés. On ne la trouve pas dans le Midi de la France ; c'est une tique des régions marécageuses, mais on la trouve néanmoins de plus en plus fréquemment dans les terrains vagues des villes.

- En tant que parasites, les tiques se fixent grâce à leurs pattes munies de griffes dans les régions à peau fine des Vertébrés.

L'habitat complexe des Ixodidés associé aux modes de vie très différents des chiens explique la répartition géographique essentiellement régionale de la babésiose canine en France et les caractères épidémiologiques et cliniques fort différents que revêt la maladie.

- Nutrition :

Les Ixodidés sont hémato-phages, mais seules se nourrissent de sang les larves, les nymphes et les femelles adultes fécondées. Les femelles non fécondées subissent en effet une diapause virginale. Quant aux mâles, selon le genre, ils ne se nourrissent pas de sang ou alors en très faible quantité. C'est à la fin de l'unique repas sanguin que les germes sont transmis, c'est-à-dire après trois à cinq jours de fixation sur l'animal.

- Cycle biologique :

les œufs issus d'un accouplement, le plus souvent sur l'hôte, parfois dans le milieu extérieur, sont pondus sur le sol, agglutinés en paquets par une sécrétion de l'organe de Genné. La prise d'un repas sanguin est nécessaire à leur maturation : après une incubation de quinze à trente jours, ils éclosent et se succèdent alors les stades évolutifs qui aboutissent à la tique adulte.

Les tiques du chien sont triphasiques, c'est-à-dire que les trois stades larvaire, nymphal et adulte, évoluent sur trois hôtes différents. En ce qui concerne les stades immatures, ils sont hébergés par des micro-mammifères (rongeurs, insectivores, petits animaux carnivores).

L'hôte hébergeant le stade adulte est différent selon l'espèce des tiques. Notons cependant que la transmission de *Babesia canis* étant transovariable chez la tique, la fixation, au cours de plusieurs générations sur des hôtes non réceptifs, n'altère en rien la possibilité pour la tique de transmettre à nouveau, en troisième ou quatrième génération, la piroplasmose à un chien.

- Pouvoir pathogène :

La possibilité, pour les Ixodidés, de transmettre la babésiose leur confère un pouvoir pathogène indirect essentiel.

Néanmoins, ils possèdent également un pouvoir pathogène direct consistant d'une part en une action mécanique avec réaction inflammatoire locale, d'autre part, en une action spoliatrice engendrant une anémie, et enfin, en une action toxique, la salive contenant des toxines à activité hémotrope, neurotrope et épithéliotrope.

B - Etiologie

1 - Sources de parasites

Elles sont représentées par les animaux infectés : on entend par infectés aussi bien les malades cliniques que les infectés chroniques.

2 - Modalités de contamination

Les Ixodidés assurent, par leur mode de nutrition hématophage, la contamination des individus réceptifs : le sang prélevé sur un sujet infecté et ingéré par la tique est ensuite inoculé à un animal sain par la salive anticoagulante.

3 - Réceptivité

. Espèce : les *Babesia* ne se transmettent qu'entre animaux d'espèce homologue ; néanmoins, *Babesia canis* parasite, outre le chien, le loup et le chacal.

. Race : les chiens de race fine sont plus sensibles que les chiens d'habitat rustique, ceux-ci acquérant sans doute au cours des générations une immunité naturelle.

. Age : il semble que les jeunes chiens soient plus réceptifs que les adultes.

. Etat de santé : tout ce qui abaisse la résistance générale d'un chien favorise l'implantation de la babésiose. Ainsi, une gestation ou une lactation peuvent entraîner des rechutes d'une babésiose apparemment guérie.

. Dose infectante : elle est généralement suffisante pour faire se développer la maladie.

. Voie d'infection : dans les conditions naturelles, la seule voie de pénétration possible est la voie sous-cutanée. Expérimentalement, on provoque plus rapidement la babésiose en utilisant la voie intraveineuse.

C - Etude clinique et anatomique

1 - Symptômes

La babésiose canine, comme d'ailleurs toutes les babésioses, se traduit par un syndrome fébrile où domine le caractère d'anémie hémolytique. On reconnaît dans l'évolution de la maladie, trois phases :

- une phase d'incubation : la période procritique
- une phase aiguë : la période critique
- une phase latente ou chronique : la période méta-critique.

- Période procritique

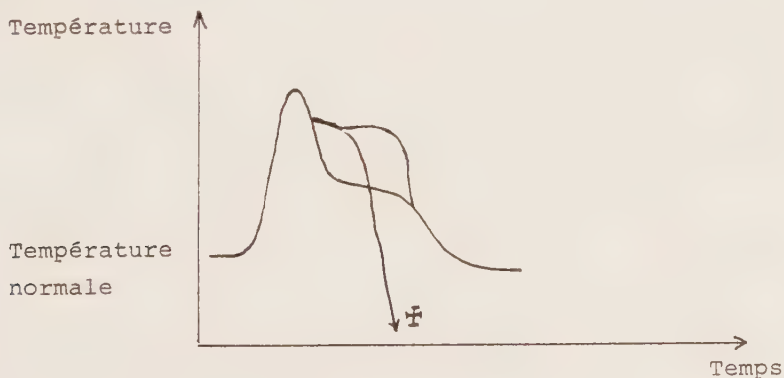
Elle est généralement assez brève, de deux à cinq jours, mais cela peut aller parfois jusqu'à dix jours. Notons que dans la babésiose, la période d'incubation clinique correspond à la période d'incubation parasitaire puisque, dès les premiers symptômes, les parasites sont présents dans le sang.

- Période critique

Cette phase est caractérisée par deux éléments symptomatiques bien définis :

. La fièvre :

le tracé de la courbe de température montre une hyperthermie caractéristique dans son évolution, qui débute brutalement par un clocher fébrile de l'ordre de 40-41°C.



Cette hyperthermie se maintient 24 à 48 heures. Tous les éléments constituant le cortège fébrile sont présents : tупhos, anorexie, abattement, accélération du rythme cardiaque, etc...

. Une anémie hémolytique :

elle se traduit localement par une décoloration des muqueuses visibles (buccale, oculaire, vulvaire). La formule sanguine est modifiée, révélant à la fois une anémie et une lymphocytose. Cette anémie hémolytique entraîne un ictère hémolytique ou pré-hépatique expliquant la couleur jaune clair des muqueuses, caractéristique.

La babésiose canine s'accompagne également de bilirubinurie. Une hémoglobininurie se traduisant par une urine semble peut aussi apparaître dès le deuxième ou troisième jour de la maladie.

Une hépatonéphrite vient parfois se greffer sur la babésiose comme complication : il se développe alors un ictère franc de couleur jaune soufre (ictère hépatique).

L'examen hématologique sur étalements sanguins réalisés sur des chiens parasités montre deux pics de parasitémie, l'un vers le 5ème jour, l'autre vers le 15ème jour suivant l'infection.

Des formes atypiques de plus en plus nombreuses apparaissent à l'heure actuelle, diminuant ainsi les possibilités de diagnostic clinique offertes au praticien. Il s'agit de formes nerveuses, digestives, respiratoires, pseudo-rhumatismales, vasomotrices, cutanéomuqueuses et oculaires. Mais dans tous les cas on retrouve des traces de l'hémolyse : ainsi, anémie et bilirubinurie sont deux critères toujours présents.

La maladie évolue sur une semaine environ, à l'issue de laquelle survient soit la mort, soit le passage à la chronicité.

- Période métacritique

Elle succède à la période de crise. La température baisse, les symptômes s'estompent : le chien est guéri cliniquement. La maladie devient latente, sub-clinique : le chien présente de l'amaigrissement, un mauvais état général, de l'anémie mais pas d'ictère. Mais à ce stade des rechutes sont toujours à craindre, le sang du chien étant toujours parasité par des *Babesia* ; un accès de deuxième invasion peut alors survenir.

2 - Lésions

Les babésioses entraînent des lésions observables aux niveaux macroscopique et histologique.

- Lésions macroscopiques :

la splénomégalie domine du fait de l'afflux au niveau de la rate d'hématies lysées. Une étude statistique réalisée par MEYNARD portant notamment sur les lésions observées lors de babésioses, a révélé que la splénomégalie n'était en fait nette que chez 62 % des malades, la rate n'étant absolument pas palpable dans les 38 % des cas restants.

- Lésions histologiques :

une prolifération du tissu lymphoïde au niveau des vaisseaux sanguins aboutit à leur obstruction d'où l'apparition de phénomènes de nécrose.

3 - Diagnostic

Jusqu'à ces dernières années, le diagnostic de la babésiose canine était avant tout basé sur la clinique et l'épidémiologie. Mais, comme nous l'avons exposé précédemment, les formes cliniques atypiques se multiplient, rendant parfois difficile le diagnostic de la maladie.

D'autre part, les formes subcliniques fréquentes sont à la fois symptomatiquement peu expressives et peu significatives. Pour cette raison, on tend à s'orienter actuellement vers un diagnostic expérimental revêtant deux aspects

dont les indications diffèrent selon que la maladie est en phase aiguë ou chronique :

. Recherche hématologique directe des *Babesia* sur des étalements sanguins réalisés sur du sang périphérique :

Ces frottis sont colorés de façon à mettre en évidence le parasite et observés sous microscope à immersion. Cette méthode, valable lorsque la parasitémie est relativement importante, c'est-à-dire en phase aiguë, l'est beaucoup moins en période métacritique où les parasites sont très rares.

. Sérologie :

ces réactions sont réalisées en faisant agir sur du sérum de chien présumé malade, donc porteur d'anticorps, des antigènes babésiens préparés en laboratoire selon des techniques qui seront mentionnées ultérieurement. Cette méthode peut être appliquée quel que soit le mode d'évolution et l'ancienneté de la maladie, compte tenu de la persistance prolongée des anticorps dans le sérum.

4 - Pronostic

Le pronostic de la babésiose canine est grave à la fois médicalement et économiquement : en effet, dans la forme aiguë, l'issue est souvent fatale. Quant à la forme chronique, si la mort ne survient généralement pas, en revanche les complications notamment hépatonéphritiques altèrent fortement ces organes et diminuent ainsi l'espérance de vie de l'animal. Cependant, un traitement adéquat rapidement mis en place et conduit de façon rationnelle s'avère très salubre à l'animal dans la plupart des cas.

D. Traitement et prophylaxie

1 - Traitement

- Médicaments utilisés :

. Traitement symptomatique : c'est un traitement classique visant essentiellement à lutter contre l'anémie, l'atteinte hépatique et rénale, et enfin le risque cardiaque. Il doit être instauré, contre les formes atypiques, un traitement adapté aux manifestations cliniques.

. Traitement spécifique : le clinicien dispose actuellement, devant un cas présumé de babésiose, d'un certain nombre de produits dont l'efficacité n'est certes plus à démontrer mais non dénués néanmoins d'une certaine toxicité quant à l'intégrité des organes vitaux de l'animal, foie et rein notamment.

D'après une enquête réalisée sur un grand nombre de clientèles du territoire français, à propos du piroplasmicide utilisé, Y. ROBIN de Villeurbanne a recueilli les résultats suivants :

82 %	Phénamidine (Pirvédine N.D.)
10 %	Pentamidine (Lomidine N.D.)
7 %	Urée symétrique (Zoothélone N.D.)
1 %	Divers produits dont les dérivés de l'acridine (Gonacrine N.D.)

Un produit récent, dérivé de l'Imidazole, l'Imidocarb, dont les caractéristiques techniques seront mentionnées ultérieurement, commercialisé sous le nom d'Imizol, s'est avéré efficace dans le traitement de la babésiose mais, pour un problème de résidu, il n'est pas autorisé en France. Ce médicament, outre ses propriétés curatives, a également des propriétés préventives et il laisse d'autre part se développer l'immunité. Pour cette raison, l'Imidocarb sera utilisé, dans l'étude expérimentale, lors des essais de chimio-immunisation.

- Résultats et conséquences

Les résultats obtenus avec les médicaments anti-babésiens sont généralement assez satisfaisants, une ou deux injections suffisant le plus souvent à enrayer la maladie. Mais on conçoit à quel point la libération rapide et brutale de métabolites, résidus de la lyse parasitaire complète, entraîne sur des organes déjà lésés par la maladie, une surcharge fonctionnelle considérable au niveau des différents émonctoires de l'animal, source d'une usure précoce de ces organes.

Il apparaît donc que, tout en assurant la guérison de l'animal, le traitement peut provoquer des séquelles organiques non négligeables et définitives.

En conséquence, étant donné les inconvénients liés au traitement, la recherche de mesures prophylactiques efficaces apparaît souhaitable.

2 . Prophylaxie

On doit l'envisager sur les plans à la fois sanitaire et médical :

. Plan sanitaire : elle consiste essentiellement en la destruction des vecteurs dans le milieu extérieur ou sur l'animal, selon le cycle du vecteur.

. Destruction sur l'animal à l'aide de bains, poudres ou colliers ixodicides.

. Destruction dans le milieu extérieur par pulvérisations de produits acaricides (HCH, DDT etc...) et destruction des gîtes.

Mais la prophylaxie sanitaire passe également par le traitement des malades cliniques et infectés latents.

. Plan médical : on dispose actuellement de différents procédés mais les moyens prophylactiques médicaux constituant précisément le sujet de cette thèse, et donc largement commentés par la suite, ne feront l'objet, dans ce paragraphe, que d'une rapide énumération.

- Immunisation active

A l'origine, SERGENT et DONATIEN immunisaient les bovins au moyen de *Babesia* d'infection latente, entretenues par passages tardifs de veau à veau, le sang de ces veaux servant de vaccins pour d'autres bovins ; mais cette méthode longue et onéreuse n'a plus cours actuellement.

On vaccine aujourd'hui essentiellement au moyen de *Babesia* vivantes, modifiées soit par passage sur veaux splénectomisés, la splénectomie permettant un développement important des parasites, tout en réduisant leur pathogénicité, soit par irradiations aux R.X.

De bons résultats sont également obtenus chez les bovins, par vaccination au moyen de parasites tués par pression puis par alternance de congélation et décongélation.

Il est à remarquer que la chimio-immunisation, méthode qui consiste à provoquer la maladie sous le couvert d'un produit chimio-préventif, de façon à déclarer chez l'animal une babésiose bénigne et immunisante, semble donner des résultats intéressants. Toutes ces méthodes concernent l'immunisation des bovins mais nous ne disposons pas encore de données précises en ce qui concerne la vaccination dans l'espèce canine.

- Immunisation passive

C'est le principe de la sérumisation qui fera l'objet, dans le cadre de la prophylaxie médicale chez le chien, de la deuxième partie de notre étude expérimentale, dans laquelle nous essayerons de provoquer un transfert d'immunité sur des chiens immunologiquement vierges par injections de sérums et autres extraits biologiques prélevés sur des chiens infectés.

La prophylaxie médicale, dans la mesure où elle est applicable, et associée à une prophylaxie sanitaire rationnelle, apparaît donc comme une méthode d'avenir dans le cadre de l'éradication de la babésiose.

En fait, tout ceci est très théorique et, si les phénomènes immunitaires survenant dans les babésioses commencent à être connus, il n'en demeure pas moins difficile de les utiliser expérimentalement dans des conditions suffisantes de sécurité. Nous envisagerons à ce propos, dans un chapitre ultérieur, tout ce qui touche aux problèmes immunologiques en matière de babésiose, chapitre qui fera le lien entre l'étude théorique de l'affection et de son agent pathogène, et l'étude expérimentale pratique.

II - L' AGENT PATHOGENE

- A - Taxonomie
- B - Historique
- C - Structure et ultrastructure
- D - Biologie
- E - Physiopathologie
- F - Conclusions

II - L'AGENT PATHOGENE

A - Taxonomie

Les babésioses sont déterminées par des parasites du genre *Babesia* (anciennement *Piroplasma*), seul genre important de la famille des Babésiidés (anciennement Piroplasmiidés) qui constitue une des trois familles de la classe des *Piroplasma* ou *Piroplasma*sida qui appartiennent au sous-embouchement des *Apicomplexa*, lui-même inclus dans l'embouchement des *Sporozoa*.

Les *Babesia* sont des parasites dixènes, non pigmentés, parasites des érythrocytes de mammifères, dont la transmission vectorielle d'un hôte à l'autre s'effectue grâce à un Acarien Ixodidé. On ne connaît pas de reproduction sexuée chez ce parasite, la multiplication se faisant seulement de façon asexuée par division binaire, parfois par bourgeonnement, dans le sang.

B - Historique

L'agent pathogène doit son nom au roumain BABES qui a observé le premier, en 1888, les parasites dans le sang d'un troupeau de bovins africains présentant des signes cliniques d'hémoglobininurie : celui-ci donne au parasite le nom d'*Hématococcus bovis* en raison à la fois de sa localisation sanguine et de sa forme arrondie. Ce n'est qu'en 1893, que STARCOVICI baptise le parasite *Babesia bovis*. Dans la même année, SMITH et KILBORNE, étudiant la fièvre du Texas qui atteint les troupeaux de bovins des Etats-Unis, montrent le rôle de la tique comme vecteur de l'agent pathogène qu'ils nomment *Pirosoma bigeminum*.

LEVINE (1971) a répertorié 71 espèces dans le genre *Babesia*, mais seulement 18 sont trouvées chez les animaux domestiques dans des conditions naturelles.

En ce qui concerne l'espèce canine, PIANA et GALLI-VALERIO décrivent, en 1895, une forme d'ictère atteignant les chiens de chasse en Lombardie et qu'ils attribuent à la présence dans le sang d'un parasite du genre *Piroplasma*.

Cet agent pathogène est ensuite isolé en France, notamment par LEBLANC (1900), ALMY (1901), NOCARD et ALMY, NOCARD et MOTAS (1902). Observé également au début du siècle dans différents pays tels que l'Afrique du Sud, la Russie, l'Afrique de l'Est, le parasite a progressivement été isolé dans la majeure partie du globe.

C - Morphologie

1 - Techniques d'observations

C'est principalement par la recherche hématologique au moyen d'étalements sanguins que la morphologie du parasite nous est connue.

. Réalisation d'un étalement sanguin :

de réalisation aisée, il permet, en même temps que le diagnostic de certitude de la babésiose, l'observation à la fois morphologique et structurale du parasite. Le frottis sanguin consiste en l'étalement sur une lame porte-objet, au moyen d'une lamelle ou d'une lame rodée, d'une goutte de sang prélevée à la face interne de l'oreille par ponction d'un capillaire sanguin à l'aide d'un vaccinostyle (le sang périphérique s'avérant plus riche en *Babesia*).

. Coloration :

différentes techniques peuvent être employées pour la mise en évidence du parasite sur l'étalement sanguin, après fixation :

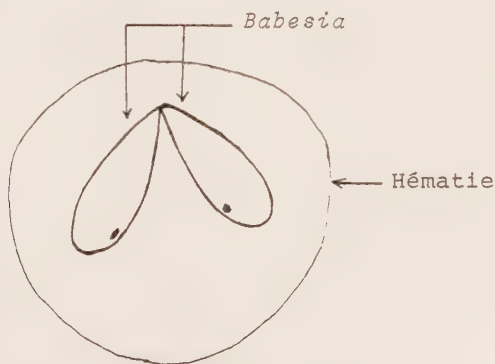
- coloration à l'orange d'acridine : la lecture se faisant sous microscope à fluorescence
- coloration au May-Grünwald-Giemsa
- Coloration de Stevenol (alcool éthylique + colorant de Stevenol) de loin

la plus rapide (une minute dans chaque bain). C'est, pour cette raison, la technique de diagnostic la plus fréquemment employée en clientèle canine.

Notons cependant que certains praticiens utilisent actuellement une technique de coloration récente permettant un diagnostic encore plus rapide (3 bains successifs à raison de 10 secondes dans chaque bain).

2 - Aspects en étalements sanguins

Le polymorphisme est une règle dans le genre *Babesia* : on trouve effectivement le parasite sous différentes formes : arrondie, ovale, piriforme, mais contrairement au genre *Theileria*, on n'observe cependant jamais d'éléments bacilliformes. En ce qui concerne l'étude morphologique, nous nous bornerons à décrire le parasite du chien, *Babesia canis*, tel que PIANA et GALLI-VALERIO l'ont décrit pour la première fois en 1895. Il appartient, au sein même du genre *Babesia*, au sous-genre *Babesia ss*, caractérisé par la longueur du parasite supérieure au rayon de l'hématie, par l'apparition sous forme souvent bigémisée, des parasites (gémisée, devrait-on dire, car constituée de deux parasites) et l'angle toujours aigu entre les deux éléments.



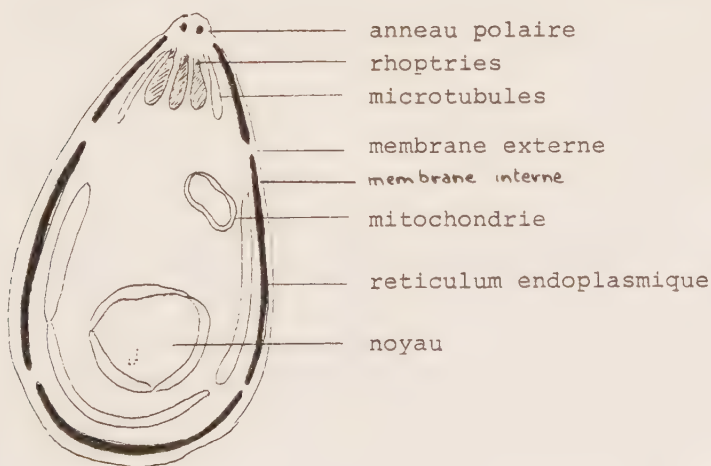
B. canis dans une hématie

3 - Structure et ultrastructure

. Chez l'hôte vertébré (chien)

Structure : la structure du parasite intra-érythrocytaire a été étudiée chez le chien par NUTTALL (1904) et par NUTTALL et GRAHAM-SMITH (1905-1906). Le parasite typique, c'est-à-dire tel qu'il apparaît le plus souvent dans l'hématie, le trophozoïte, mesure environ 4,5 à 5 μ : il présente deux extrémités : l'une pointue, l'autre globuleuse. Mais il apparaît parfois sous forme amiboïde de 2 à 4 μ de diamètre.

Ultrastructure : le cytoplasme contient généralement une vacuole ; les trophozoïtes mûrs possèdent une double membrane (interne et externe), la membrane interne étant plus épaisse et interrompue par endroits. Le noyau, assez gros, est généralement situé au pôle arrondi de la cellule. Il apparaît à l'extrémité pointue un anneau polaire d'où part toute une ultrastructure particulière constituée de micro-tubules et de rhoptries. Le cytoplasme cellulaire comprend, outre du réticulum endoplasmique, des mitochondries et des ribosomes libres.

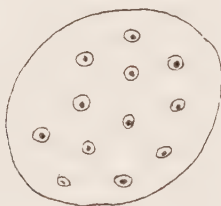


Ultrastructure de *Babesia canis* (d'après BÜTTNER, 1968)

Sous forme arrondie, forme de croissance pré-divisionnelle, *Babesia canis* perd son organisation apicale originelle : on observe alors de nombreuses invaginations membraneuses.

. Chez l'hôte invertébré (tique)

D'après les travaux de SHORT, il apparaît qu'après ingestion d'hématies parasitées et passage de celles-ci à travers la paroi intestinale, on peut trouver dans la cavité générale de la tique des corps sphériques de 15 μ de diamètre environ, résultant d'une évolution du parasite d'origine et dont le noyau se fragmente pour donner des "corps de fission multiple" ou "pseudokystes" qui libéreront ensuite dans l'hémolymphe de petits éléments vermiculaires.



Pseudokystes de *Babesia canis* (d'après SHORT)

Les acini larvaires de la tique, quant à eux, sont très riches, après la prise d'un repas sanguin sur un animal infecté, en petits éléments piriformes significatifs. Tout ceci concerne le vecteur adulte, mais les différents stades de développement de la tique sont aussi parasités.

De l'œuf parasité éclot une larve dans laquelle les corpuscules de 1 - 2 μ de diamètre, intracellulaires, se développent et, à partir des "corps de fission multiple" (semblables à ceux observés chez l'adulte), de nombreux éléments vermiculaires sont libérés : c'est un nouveau relai de multiplication avant le stade nymphal.

Il se passe la même chose chez la nymphe après métamorphose, avec apparition d'éléments sphériques puis vermiculaires.

Chez l'imago, après la deuxième métamorphose, on retrouve ces parasites dans les muscles jusqu'à la prise du repas sanguin. L'aspect morphologique de la *Babesia* est donc très différent selon, d'une part la phase d'évolution du parasite lui-même, d'autre part, le cycle biologique de son hôte.

D. Biologie

1. Habitat

- Chez le chien : l'observation microscopique d'étalement sanguin de chien parasité montre des trophozoïtes intraérythrocytaires. Il est cependant fréquent de trouver des formes extraérythrocytaires mais les travaux réalisés jusqu'à ce jour n'ont pas encore permis de savoir de façon certaine s'il s'agissait de formes très transitoires d'invasion (passage d'une hématie à une autre) ou s'il s'agissait d'une possibilité réelle de vie parasitaire en dehors des globules rouges après inoculation par la tique : la plupart des auteurs rejettent néanmoins cette seconde hypothèse.

- Chez la tique : après ingestion du repas sanguin par la tique femelle adulte, la plupart des hématies sont digérées dans le tube digestif : certaines *Babesia* cependant traversent la paroi intestinale et aboutissent dans la cavité générale puis, de là, gagnent les tubes de Malpighi et les ovaires pour être finalement présents dans les œufs.

Avant un repas sanguin, les *Babesia* sont dispersées dans les muscles de la tique alors que, au moment de la prise du repas, les parasites apparaissent en très grande

quantité dans les acini salivaires.

2. Nutrition

La nutrition et le métabolisme des *Babesia* nous sont encore assez mal connus. On émet cependant l'hypothèse que le parasite, grâce à ses vacuoles digestives, utilise le stroma érythrocytaire et sans doute aussi le plasma. Contrairement au *Plasmodium* qui libère dans l'hématie de l'hémozoïne, pigment noir de dégradation de l'hémoglobine, la *Babesia* ne rejette aucun résidu.

3. Spécificité

Les *Babesia* sont étroitement adaptées à une espèce de mammifères : *Babesia canis*, par exemple, ne parasite pratiquement que le chien.

La culture *in vitro* du parasite en dehors donc de l'hôte spécifique est néanmoins possible depuis quelques années.

4. Reproduction

- La reproduction sexuée : il n'y a pas de reproduction sexuée connue chez *Babesia canis*. En effet, REGENDANZ et REICHENOW (1933) nièrent son existence dans le cycle évolutif de *Babesia canis* chez la tique *Dermacentor reticulatus*.

Il n'y a donc pas de sporozoïtes vrais, ce qui constitue à l'évidence une faille dans l'appartenance des *Babesia* à l'embranchement des *Sporozoa* précisément caractérisés par la formation, au cours de leur cycle biologique, de spores libératrices de sporozoïtes. Les auteurs admettent d'ailleurs de plus en plus actuellement la probabilité de l'existence d'un phénomène sexué.

- Multiplication asexuée : c'est le seul moyen de reproduction connu chez ce parasite. Cette multiplication peut s'effectuer dans le sang de deux façons :

- par fission
- par bourgeonnement

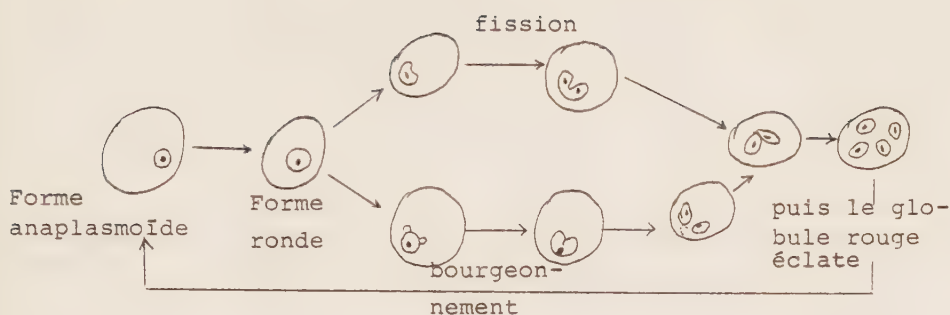


Schéma de la multiplication des *Babesia*

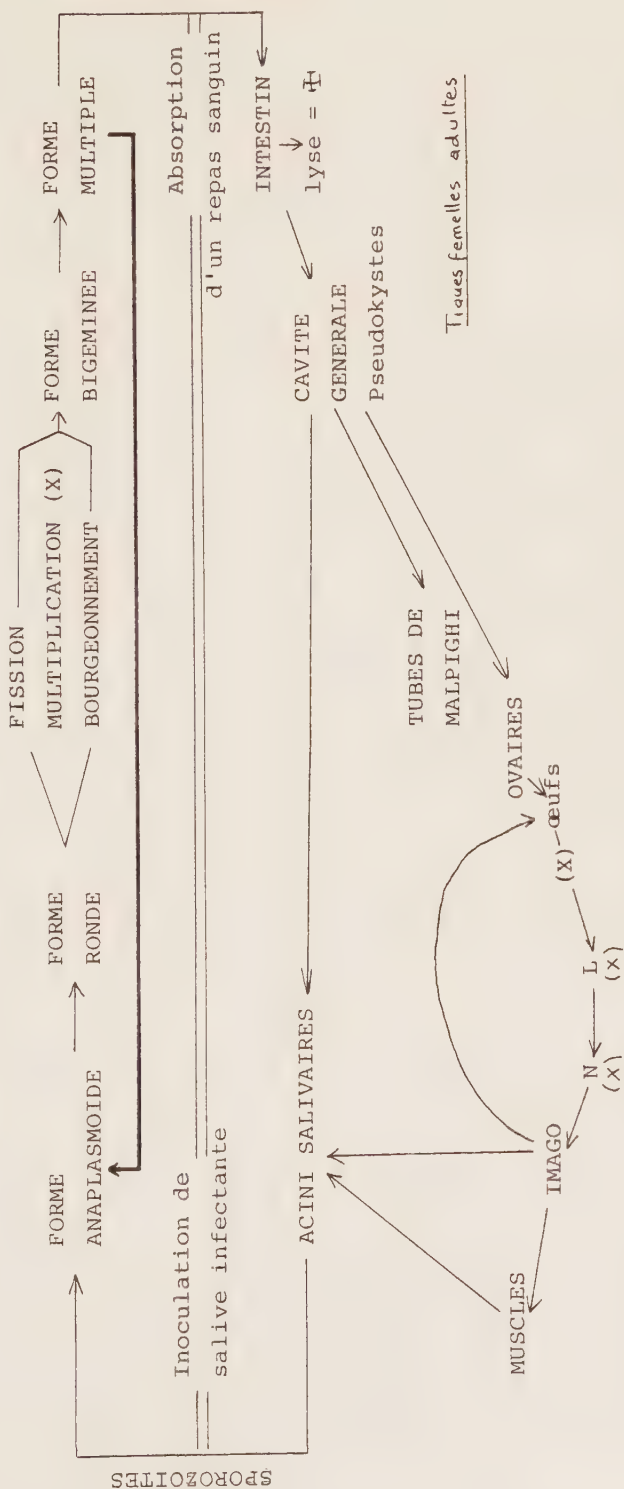
- Par fission : la forme ronde présente une invagination qui s'accroît, séparant progressivement le cytoplasme en deux portions symétriques ; puis, le noyau se divise à son tour et l'invagination progresse jusqu'à cliver complètement la cellule mère en deux cellules filles identiques : on obtient alors une forme bigéminée classique de *Babesia*. Une ou quelques autres divisions semblables peuvent survenir mais l'hématie finit par éclater, libérant les parasites qui sont alors aptes à parasiter d'autres hématies et se divisent à leur tour.

- Par bourgeonnement : la forme ronde présente deux expansions cytoplasmiques qui s'accroissent à la périphérie, bientôt colonisées par deux masses de chromatine issues du noyau. Tout le cytoplasme de la cellule parasite d'origine est finalement complètement intégré dans les deux prolongements, lesquels restent attachés par leur extrémité pointue jusqu'à ce que les deux cellules filles finissent par se séparer : elles ont alors le même devenir que dans la multiplication par fission.

HÔTE VERTEBRE : CHIEN

SANG VISCERAL. $\rightleftharpoons$ SANG PERIPHERIQUE

(foie, poumon, rate, cœur, rein)



HÔTE INVERTEBRE : TIQUE

5. Cycle évolutif

Le cycle évolutif de *Babesia canis*, parasite dixène, nécessite pour son complet développement le passage successif sur deux hôtes ; l'un vertébré : le chien ; l'autre, invertébré : un Ixodidé, vecteur du parasite. Nous allons donc étudier successivement ce qui se passe chez l'un et l'autre hôte.

- Chez le chien : nous prendrons comme point de départ tout à fait arbitraire de ce cycle, la contamination d'un chien sain par inoculation de salive infectante au cours de la prise d'un repas sanguin, par une tique contaminée. La forme observable juste après inoculation est dite forme "anaplasmoïde", n'a guère plus d'1 μ de diamètre et correspond à la forme d'entrée du parasite chez le chien. Mais sa taille s'accroît rapidement, du cytoplasme apparaît autour de cette simple masse chromatique, et l'on obtient alors une forme qualifiée de forme "ronde" : c'est la forme d'entrée en division du parasite, à l'issue de laquelle on obtient une forme bigéminée, voire même multiple. Une fois libérées par éclatement de l'hématie parasitée, les *Babesia* filles vont coloniser d'autres hématies pour leur propre compte. On en arrive ainsi au taux d'infection caractérisant la phase critique de l'affection et qui en explique les symptômes : notons que le parasite se multiplie d'abord dans le sang viscéral puis dans le sang périphérique.

- Chez la tique : la contamination de la tique va se faire lors de la prise d'un repas sanguin : les Ixodidés prenant un seul repas par stade, le passage transtadial est donc obligatoire pour la transmission de l'infection. La plupart des *Babesia* sont lysées à leur arrivée dans l'intestin de l'Ixodidé ; certaines cependant traversent la paroi intestinale et tombent dans la cavité générale où elles se développent en corps sphériques d'une quinzaine de microns : il se forme des corps de "fission multiple" ou "pseudokystes" libérant dans l'hémolymphe de petits éléments vermiculaires qui vont gagner différents organes, notamment les tubes de Malpighi et surtout les ovaires :

il y a toujours pénétration dans les ovaires et dans les œufs. Le parasite se retrouve ainsi dans l'œuf où il se multiplie, puis dans la larve, la nymphe où il se multiplie également et enfin dans l'imago dont il envahit tout l'organisme, les muscles notamment et principalement les acini salivaires, ce qui explique la facilité de contamination du chien par la tique lors de la prise du repas sanguin sur cet animal. MARKOV démontra la possibilité d'un passage transovarial des Piroplasmes (pendant 14 générations de tiques), cela signifiant que, dans des foyers naturels latents de babésiose (babésioses enzootiques), le parasite peut être hébergé chez des vecteurs pendant de nombreuses années.

La multiplication du parasite est rapide chez le chien puisque quatre à cinq jours à peine après une infection, naturelle ou expérimentale, les parasites apparaissent en abondance sur les étalements sanguins à tel point d'ailleurs que, d'après D.F. MAHONEY, dans les infections graves de l'espèce bovine, une invasion multiple des érythrocytes peut simuler une schizogonie. Selon le même auteur, il est difficile de déterminer avec précision et directement le temps nécessaire pour l'accomplissement complet du cycle érythrocytaire du fait du caractère asynchrone de la multiplication des *Babesia*.

Ceci constitue donc, schématiquement retracé, le cycle évolutif de *Babesia canis*. Il n'apparaît à aucun moment de phénomène sexué caractérisé. La connaissance de ce cycle a apporté également des précisions importantes concernant notamment l'épidémiologie et la prophylaxie de la maladie : la contamination "*in utero*" des œufs assure en effet la pérennité de la maladie et sa dissémination, compte tenu du nombre d'œufs parasités qui vont se développer pour donner des tiques infectées, donc aptes à contaminer de nouveaux chiens. Une prophylaxie efficace d'éradication de la maladie n'est donc concevable sans envisager la destruction des tiques, ceci dans le cadre de la prophylaxie sanitaire. On comprend d'autre part aisément, au vu de ce cycle, l'effet néfaste, à grande échelle, du parasite sur la lignée érythrocytaire.

E. Physio-pathologie

Nous allons envisager dans ce paragraphe le mode d'action du parasite sur l'hôte et d'une manière générale, les relations hôte - parasite.

Le processus pathologique conduisant au tableau clinique classique, caractérisé par des signes de fièvre avec anorexie, diarrhées, vomissements, anémie, hémoglobinurie, urémie, ictère, commence avec l'introduction du parasite par l'appareil buccal de la tique dans le tissu conjonctif sous-cutané de l'hôte vertébré, en l'occurrence le chien.

Les caractères physio-pathologiques déterminés par la présence de *Babesia canis* dans le sang du chien revêtent trois aspects différents :

- pouvoir pathogène
- pouvoir toxigène
- pouvoir antigène

- Pouvoir pathogène :

après inoculation par la tique, les *Babesia* passent directement dans le torrent circulatoire et infectent les érythrocytes. Les parasites se multiplient rapidement dans les hématies dès le début de l'infection, bien que la parasitémie ne soit pas tout de suite décelable sur les étalements sanguins.

Il faut donc envisager le pouvoir pathogène de la *Babesia* sous l'angle de son action mécanique.

D.F. MAHONEY étudiant la babésiose bovine à *Babesia bovis* reconnaît à ce propos quatre phases principales dans cette action mécanique du parasite sur l'hôte.

. Dans un premier temps, il s'agit de la croissance et de la multiplication des *Babesia* dans les érythrocytes, se faisant selon les modalités déjà exposées au paragraphe "multiplication asexuée".

. Dans un deuxième temps, il se produit une destruction intravasculaire de ces érythrocytes lors de la sortie des parasites : le mécanisme intime de cette évasion des parasites est encore mal connu à l'heure actuelle : s'agit-il d'un phénomène actif de la part de la *Babesia* faisant intervenir l'organisation apicale, comme cela semble se passer lors de la pénétration dans une nouvelle hématie ?

Cette destruction érythrocytaire entraîne l'apparition d'un syndrome anémie en même temps qu'augmente le taux de parasitémie. Mais, les numérations de la lignée rouge réalisées chez un chien parasité montrent qu'en fait la perte totale en érythrocytes est généralement plus élevée que la perte résultant de la simple rupture directe des hématies.

Selon NEITZ (1938), d'autres mécanismes tels que la lyse et la phagocytose d'hématies normales et infectées sont aussi impliqués dans la genèse de cette anémie.

KARPUT (1966) et DORNER (1967) ont montré que la multiplication active des *Babesia* dans le sang s'accompagnait même d'une réticulocytose, preuve que l'infection babésienne ne retarde en rien l'hématopoïèse : le taux d'hématies reprendrait même rapidement sa valeur physiologique lors de la guérison clinique.

Cependant, WRIGHT (1971) a observé que l'anémie engendrée par l'affection à *Babesia canis* comme d'ailleurs d'autres espèces de *Babesia*, peut persister plusieurs semaines même après la disparition des parasites du sang périphérique, et cela en dépit d'une hématopoïèse active.

. Dans un troisième temps, après destruction de la membrane érythrocytaire, l'hématie parasitée libère donc passivement les parasites dans le torrent plasmatique ainsi que ses propres constituants érythrocytaires. Outre les conséquences immunologiques dues à la structure antigénique de tels composants sur lesquelles nous reviendrons ultérieurement, il convient d'évoquer les conséquences de la libération d'hémoglobine après la lyse des hématies.

En effet, la quantité d'hémoglobine libérée est très importante et son devenir est différent en fonction de la quantité émise :

- si la concentration en hémoglobine est $> 1/60$, de l'hémoglobine passe dans l'urine de l'animal, génératrice d'une hémoglobinurie.

- Si la concentration est $< 1/60$, l'hémoglobine ne filtre pas au niveau du rein.

Quoiqu'il en soit, elle est dégradée au sein du torrent circulatoire en bilirubine non conjuguée (BNC) dont l'importance quantitative entraîne un ictère hémolytique.

Le rôle du foie, dans des conditions normales, est de conjuguer cette bilirubine non conjuguée pour la transformer en bilirubine conjuguée (BC).

Si la bilirubine conjuguée se trouve présente en petite quantité, elle est transformée, au niveau de l'intestin en stercobiline qui sera éliminée avec les matières fécales.

En quantité plus importante, une partie de la bilirubine conjuguée est transformée en urobiline au niveau de l'appareil excréteur et l'on observe donc une bilirubinurie.

Tout ceci nécessite l'intégrité du foie : si le foie est lésé, soit il n'y a pas du tout de conjugaison, soit il y a conjugaison de la bilirubine non conjuguée mais celle-ci n'est alors pas excrétée.

A l'ictère hémolytique (préhépatique) précédemment décrit s'ajoute alors un ictère hépatique, lié à un dysfonctionnement de cet organe : il s'agit dans ce cas d'ictère mixte. C'est donc par ce mécanisme complexe que la destruction érythrocytaire peut entraîner à la fois hémoglobinurie, ictère et bilirubinurie.

Mais à cette pathologie propre due à la libération de l'hémoglobine, s'ajoute également une action pathogène probablement due, d'après MAHONEY et GOODGER (1969), aux phospholipides issus du stroma des érythrocytes lysés qui déclenchent un processus de coagulation intravasculaire.

En fait, d'après les mêmes auteurs, cette perturbation des mécanismes physiologiques, occasionnée par les constituants propres de l'hôte, existe à plus grande échelle avec, en particulier, l'effort fourni par les organes impliqués dans l'élimination de quantités anormales d'hémoglobine, par surcroît de travail.

- Il faut enfin évoquer l'existence de conséquences de l'anémie sur les organes internes par anoxie : ceci apparaît assez tôt au cours de l'évolution de la maladie, particulièrement au niveau du foie et du rein, et résulte de la réduction du débit sanguin à travers ces organes, suite au phénomène de choc probablement mis en œuvre au départ par un processus d'ordre physiologique (MAEGRAITH et al. 1957 ; GOLDWIN et RICHARDS, 1960).

Le développement d'une anémie sévère puis le regroupement et l'adhérence des hématies parasitées sur les parois des capillaires augmentent secondairement l'anoxie tissulaire.

Ce dernier phénomène entrave davantage la circulation sanguine et est souvent marqué particulièrement au niveau cérébral où la thrombose des capillaires peut occasionner des dégâts importants, notamment dans les affections à *Babesia canis*.

- Pouvoir toxigène :

Il existe probablement mais n'a jamais été démontré de façon formelle chez les Babesiidés. Il s'agirait néanmoins d'une toxine à propriétés hémolysantes dont l'action suppléerait l'action purement mécanique des parasites, et aussi, nous allons le voir, l'action antigénique hémolytique du parasite.

- Pouvoir antigène :

* Découverte

Depuis la découverte et l'application de techniques sérologiques et immunologiques permettant la détection des structures antigéniques, la libération par l'hôte parasité

de substances à propriétés antigènes est devenue aujourd'hui une certitude. Mais la présomption que l'on avait déjà auparavant que les parasites érythrocytaires produisent des antigènes responsables de l'induction d'une immunité acquise se justifie principalement par le fait que, à part les formes inoculées par la tique, les autres stades n'ont pas été mis en évidence chez l'hôte vertébré.

Ce n'est que vers la fin des années 1960 que différents auteurs mettent en évidence l'existence d'un tel pouvoir antigène. Ils observent, pendant la phase aiguë de l'infection babésienne, la circulation dans le sang de substances immunogènes pour l'hôte et issues des parasites ou résultant d'une interaction hôte-parasites ou encore des deux origines à la fois. Les substances en question ont été détectées par des réactions sérologiques mettant en présence du plasma infecté et des anticorps spécifiques présents dans le sang de l'hôte après infection et également par des réactions d'inoculation à des hôtes sains de plasma prélevé sur des animaux infectés (K.H. SIBINOVIC et al. 1965 ; MAHONEY, 1966).

K.H. SIBINOVIC et al. (1967); MAHONEY et GOODGER (1969); GOODGER (1970) montrent que des fractions de plasma infecté contenant des gamma-globulines, des bêta-globulines et des complexes haptoglobine-hémoglobine, contiennent aussi ces antigènes.

Bien qu'ils aient cherché à mettre en évidence et découvert des différences entre ces fractions de plasma contenant de tels antigènes et des préparations comparables provenant de plasmas normaux, ces auteurs n'ont pas réussi à isoler et caractériser les substances antigéniques elles-mêmes.

D'après SIBINOVIC (1967), les antigènes correspondant à *Babesia canis* ont les propriétés suivantes :

- ils provoquent une destruction érythrocytaire peu après leur inoculation ;
- ils donnent des réactions croisées spécifiques entre eux et non spécifiques des antigènes plasmatiques de *Plasmodium* (H.W. COX et al. 1968);

- ils protègent contre les *Babesia* homologues et hétérologues. En revanche, les antigènes plasmatiques de *Babesia bovis* ne provoquent pas de destruction érythrocytaire chez des veaux non infectés, mais ils stimulent la formation d'anticorps et induisent une protection spécifique contre *Babesia bovis*. La plus grande partie de l'antigène apparaît liée aux protéines sériques sous une forme sérologique inactive.

La protection non spécifique qui a pu être obtenue après immunisation avec du matériel provenant de chiens infectés était vraisemblablement due à l'état physique de l'antigène dans leur plasma. En plus de l'immunité spécifique, l'antigène libre pourrait aussi induire une résistance non spécifique semblable à celle observée dans le paludisme après traitement de l'hôte par une endotoxine ou des inducteurs d'interférons (MARTIN et al., 1967; JAHIEL et al. 1968; LUDFORD et al. 1969).

L'absence de cet effet non spécifique après immunisation de veaux avec du matériel provenant d'un autre troupeau infecté pourrait être dû à des modifications dans l'antigène associé ou lié aux protéines sériques.

* Structure antigénique de *Babesia canis* :

Longtemps méconnue, la structure antigénique de *Babesia canis* a été récemment découverte ; il a été démontré que le parasite possède deux types d'antigènes :

- des antigènes de structure ou antigènes somatiques
- des antigènes solubles plasmatiques ou antigènes métaboliques.

- Antigènes somatiques

Ils entrent dans la constitution propre du parasite lui-même et ne peuvent diffuser. On peut les obtenir par désintégration du stroma érythrocytaire au moyen de procédés physiques : en fait, le produit obtenu n'est pas pur : il contient également des fractions d'antigènes métaboliques

et des résidus de globules rouges. Différentes réactions immunologiques permettent de mettre en évidence le pouvoir antigénique de ces éléments, notamment les réactions d'agglutination, de fixation du complément et d'immuno-diffusion en gélose.

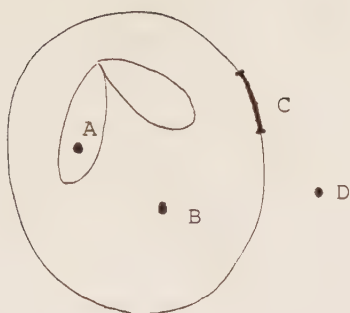
Ces antigènes possèdent également des propriétés immunogènes et confèrent une protection forte et très spécifique vis-à-vis de souches homologues.

- Les antigènes métaboliques :

Ils sont solubles et peuvent diffuser hors du parasite pour envahir le stroma des hématies et même le plasma sanguin. Ils n'ont pu, eux non plus, être obtenus à l'état pur : comme cela a été mentionné précédemment, ils contiennent toujours des fractions de γ globulines, β globulines des complexes haptoglobine-hémoglobine. Ces antigènes plasmatiques seraient, semble-t-il, constitués de deux fractions :

- l'une, véritablement plasmaticque, libre ou liée à une protéine sérique
- l'autre, la fraction b, serait fixée à la surface des érythrocytes, parasités ou encore sains, et aurait pour but de les rendre antigéniques également, donc cible du système immunitaire. Il s'agit là d'un cas d'auto-immunité, sur lequel nous reviendrons ultérieurement.

Le schéma ci-dessous représente les différentes localisations antigéniques portées ou induites par la *Babesia* :



Structure antigénique de la *Babesia*

Antigène A : dans le parasite

Antigène B : hématie infectée

Antigène C : paroi érythrocytaire

Antigène D : plasma sanguin

En ce qui concerne l'antigène C, à la surface des érythrocytes, les travaux de WRIGHT (1971) au microscope électronique n'ont pas pu mettre en évidence de connexion anatomique entre le parasite et la membrane cellulaire hôte. L'origine de l'antigène C à la surface des globules rouges, est ainsi assez mal explicable, mais il est probable que les changements apparaissant dans la configuration de ses déterminants sont contrôlés par le parasite.

Conclusion

De cette étude concernant la physiopathologie de l'affection à *Babesia canis*, il ressort donc que la pathogénécité du parasite s'exerce sur l'hôte définitif de trois façons à la fois ;

- Une action mécanique qui aboutit à la lyse des hématies par un simple phénomène de surpression physique au sein de l'hématie, donc nécessitant obligatoirement la présence des *Babesia*.

- Une action toxique mettant en jeu une toxine hémolytante, encore hypothétique.

- Une action antigénique, la plus importante sans doute, qui se manifesterait pendant la phase critique mais aussi pendant la phase métacritique, même après la disparition apparente de toute trace du parasite. Ce phénomène d'auto-immunité dont nous avons déjà évoqué l'existence précédemment, permet d'envisager la physiopathologie de la babésiose sur le plan de l'immuno-pathologie.

Nous reviendrons, dans le chapitre suivant, sur les conséquences pour l'hôte de ces phénomènes d'immuno-pathologie, c'est-à-dire ses manifestations anatomo-cliniques, mais précisons tout de suite qu'ils sont à l'origine de phénomènes tels que l'anémie hémolytique, l'ictère, la splénomégalie et les thromboses capillaires entre autres.

F. Conclusions

Ce chapitre consacré à l'étude à la fois analytique et synthétique de l'agent pathogène de la babésiose canine nous a apporté d'une part des précisions concernant l'épidémiologie de l'affection et le cycle évolutif du parasite, donc des indications quant à une éventuelle prophylaxie sanitaire, et nous a montré d'autre part les relations qui s'établissent entre l'hôte et le parasite, c'est-à-dire les conséquences de l'introduction du parasite dans l'organisme hôte : nous avons vu, à ce propos, l'action antigénique indéniable occasionnée par la présence du parasite chez l'hôte vertébré, action dont nous avons déjà mentionné les conséquences défavorables, à savoir les phénomènes auto-immunitaires dont était victime l'animal infecté. Mais la présence aujourd'hui confirmée de structures antigéniques engendrées par l'affection babésienne permet heureusement, en contrepartie, d'envisager l'existence d'un certain degré d'immunisation chez des sujets ayant, soit déclaré une babésiose clinique, soit du moins été en contact avec un ou plusieurs antigènes babésiens. Tous les phénomènes d'ordre anatomo-clinique ou sérologique ayant trait à l'immunité vont être traités dans un chapitre particulier consacré aux phénomènes immunologiques inhérents à l'infection babésienne.

III - LE POINT DE VUE IMMUNOLOGIQUE

- A - Origine de l'immunité
- B - Nature de l'immunité
- C - Conséquences des phénomènes immunitaires
- D - Méthodes d'immunisation chez les Bovins

III. LE POINT DE VUE IMMUNOLOGIQUE

C'est principalement vers le domaine de l'immunologie que s'orientent actuellement les recherches en matière de babésiose, la maladie nous étant maintenant connue dans ses principaux caractères, notamment épidémiologiques et anatomocliniques.

Les données bibliographiques actuelles concernant la babésiose canine sont encore très fragmentaires, preuve du peu d'intérêt que les chercheurs ont manifesté envers cette affection et, pour cette raison, l'I.F.F.A. Mérieux de Lyon a décidé de s'intéresser de près à ce problème depuis quelques années dans le service du Docteur MOREAU.

En revanche, les phénomènes immunologiques inhérents aux babésioses, bovines en premier lieu et équine au second plan, ont fait l'objet, depuis déjà plusieurs dizaines d'années, d'études sérieuses et approfondies, études qui ont d'ailleurs débouché sur la mise au point de moyens prophylactiques médicaux efficaces dans des régions où ce fléau affecte de façon particulièrement intense le cheptel et ces travaux ont beaucoup inspiré les recherches immunologiques en ce qui concerne la babésiose canine.

L'étude de la structure antigénique du parasite ayant été faite dans le chapitre précédent à l'occasion de l'étude des caractères physiopathologiques du parasite, nous n'y reviendrons pas et nous allons surtout nous attacher, dans ce paragraphe, à décrire les réactions de l'hôte, au sens immunitaire du terme, avec les différents aspects que ce mot sous-entend.

Une première partie sera consacrée à des considérations sur l'origine elle-même de l'immunité, c'est-à-dire la façon dont l'animal peut acquérir une immunité anti-babésienne. Nous envisagerons, dans une deuxième partie, la nature des phénomènes immunitaires dans les babésioses :

nous essaierons ainsi de donner une réponse à la question : l'immunité à *Babesia* est-elle à médiation humorale ou cellulaire ?

Une troisième partie traitera des conséquences sur l'hôte de ces phénomènes d'immunité avec son double aspect bénéfique et néfaste pour l'animal.

Une quatrième partie, faisant office à la fois de conclusion à la première partie théorique de ce travail et d'introduction à la deuxième partie exclusivement expérimentale, traitera des méthodes d'immunisation déjà en usage chez les bovins.

A - Origine de l'immunité

Comme cela est le cas dans la plupart des parasitoses, il convient de différencier une immunité naturelle inhérente aux qualités constitutives de l'hôte, immunité que l'animal possède à la naissance, et une immunité acquise qu'il contracte à la suite d'une infection, que celle-ci s'exprime cliniquement ou de façon latente.

1 - Découverte de la notion d'immunité

- Immunité naturelle : le concept d'immunité naturelle de certains animaux vis-à-vis de la babésiose est né de l'observation du fait que tous les animaux ne sont pas sensibles à une espèce donnée de *Babesia*, ce qui constitue la preuve qu'ils sont naturellement immuns contre cette affection ; il s'agit donc d'une immunité naturelle interspécifique, mais on a également remarqué qu'au sein d'une même espèce d'hôtes, tous les animaux ne sont pas sensibles de la même façon à l'infection babésienne provoquée par la *Babesia* pourtant pathogène normalement pour leur espèce : il s'agit alors dans ce cas d'une immunité naturelle intraspécifique de caractère racial ou individuel.

- A la limite entre l'immunité naturelle et l'immunité acquise, il convient de citer l'immunité passive d'origine maternelle transmise par les anticorps colostraux de la mère à son produit.

- Immunité acquise : c'est principalement sur des populations de bovins que la preuve a été faite de l'existence d'une immunité acquise. Des auteurs ont en effet remarqué que dans les zones de répartition des tiques correspondant aux aires piroplasmogènes, donc aux zones d'endémie babésienne, la forme clinique contractée par les bovins indigènes est plus bénigne que celle contractée par des animaux sains, secondairement importés dans ces zones d'endémie. De même si l'on exporte ces animaux indigènes vivant dans la zone de babésiose endémique dans une région voisine où le parasite appartient pourtant à la même espèce, ces animaux déclarent une forme clinique grave : ce brusque déclenchement de la maladie, lié à une rupture de l'immunité, s'explique du fait que le parasite, bien qu'appartenant à la même espèce, est d'une souche différente : une structure antigénique différente, conséquence d'une variation antigénique, expliquerait donc cette rupture d'immunité. Il convient cependant de ne pas négliger le facteur "*stress*" que constitue l'exportation des animaux d'un territoire dans un autre. Tout ceci concerne les bovins mais on conçoit aisément qu'il puisse se passer le même genre de phénomènes chez le chien : on expliquerait ainsi que des chiens, d'habitat rural, vivant en pleine région endémique, n'expriment pratiquement jamais de babésiose clinique alors qu'un chien d'habitat urbain ou sub-urbain de passage pour quelques jours dans cette même région, contracte une affection clinique souvent sévère à son retour en ville. L'explication habituellement retenue est la suivante : en milieu rural, les chiens s'infecteraient très tôt, de par leur mode de vie, en étroite cohabitation avec les tiques, et contracteraient soit une forme clinique réellement exprimée mais passant inaperçue compte tenu du peu d'égard dont ces animaux sont l'objet dans ce milieu, soit une forme latente non exprimée mais génératrice cependant d'un processus immunitaire suffisant pour protéger l'animal.

Il est probable en fait qu'à cette hypothèse certainement en grande partie justifiée, s'ajoute le processus de variation antigénique dont nous venons de faire mention précédemment.

2 - Facteurs déterminant l'immunité

- Immunité naturelle : de nombreux facteurs sont invoqués pour justifier l'existence de l'immunité naturelle ; il s'agit en premier lieu de l'espèce : les *Babesia* sont des parasites jouissant d'une assez grande spécificité vis-à-vis de leurs hôtes (dans la nature, les *Babesia* parasites du chien, du cheval, des bovins etc... sont en effet d'espèces différentes). La spécificité d'hôte semblerait essentiellement due à un phénomène d'immunité naturelle et les infections croisées s'expliqueraient par des rapports phylogéniques étroits entre les hôtes : ainsi *Babesia canis* parasite aussi le coyotte et *B. equi* parasite aussi le zèbre. Mais, d'après D.F. MAHONEY, les seules relations phylogéniques n'expliquent pas toujours les cas d'infection croisée observés. En effet, DENNIG (1959) infecte des souris avec une souche de *Babesia canis*, de même CALLOW (1965) infecte des chevaux avec *Babesia bigemina*.

Chez l'homme, tous les cas, à l'exception d'un seul, se sont déclarés sur des individus splénectomisés. C'est également sur des singes, privés de rate, que SKRABALO et DEANOVIC (1957) provoquent l'apparition d'une babésiose à *Babesia divergens* et *Babesia microti*.

La splénectomie faciliterait l'implantation des *Babesia* sur des hôtes qui leur sont inhabituels et l'activité phagocytaire pourrait donc jouer ainsi un rôle aussi important dans la détermination de la spécificité d'hôte, que des différences physiologiques. La splénectomie, par le biais d'une rupture de l'immunité naturelle, contribue donc à diminuer la spécificité d'hôtes.

Interviennent également des facteurs génétiques : en effet, au sein d'une même espèce, des races différentes ne réagissent pas de la même façon à l'infection ; ainsi, en Australie, *Bos indicus* se montre plus résistant que *Bos taurus* à l'infection par *Babesia bovis* (DALY et HALL, 1955).

Cependant, en ce qui concerne les animaux domestiques, il n'a encore jamais pu être mis en évidence de facteurs génétiques spécifiques capables de modifier la sensibilité de l'organisme hôte à l'infection.

DUMAG et al. (1962) montrent que l'incidence de la maladie est particulièrement importante sur un troupeau hybride non préalablement exposé à l'infection.

Le facteur âge a également son importance, et, en matière de babésiose, c'est chez le jeune animal que l'immunité est la plus forte : c'est, en effet, ce qui ressort de l'examen de la situation épidémiologique en région endémique dans l'espèce bovine : il y a transmission de l'immunité de la mère à son produit par le support des anticorps colostraux. L'expression clinique de la maladie chez le jeune dépend donc essentiellement des contacts que la mère a pu avoir avec le parasite avant la parturition ou même plutôt le début de la lactation (du fait de la transmission possible *in utero*, l'infection de la mère au cours de la gestation se traduit en effet plus souvent par l'infestation du fœtus lui-même que par son immunisation).

Cette immunité dont jouit le jeune est donc, en fait, une immunité acquise, passivement transmise par la prise du colostrum maternel à la naissance : par la suite, une immunisation active du produit par ses contacts répétés avec la *Babesia* permet de prolonger au-delà des limites de l'immunité induite par les anticorps maternels la période de protection.

Ainsi, selon les contacts hôte-parasite subis dans le jeune âge, les facteurs responsables d'une immunité naturelle pourraient être parfois soit complètement inhibés, soit faiblement développés. RIEK montre, en 1963, à partir

d'observations sur le terrain et d'expérimentations en laboratoire, que des veaux, pourtant issus de mères non immunisées (diagnostic sérologique négatif) présentent une résistance significative à *Babesia bovis* et à *Babesia bigemina* quatre à sept mois après la naissance.

Il convient enfin de mentionner différents facteurs non spécifiques : dans diverses circonstances tout à fait indépendantes de l'infection babésienne, la résistance aux babésioses se trouve augmentée.

MAHONEY démontre expérimentalement que des veaux soumis à de petites doses (1,25 µg/kg) de lipopolysaccharide d' *Escherichia coli*, préalablement à l'infection par *Babesia bovis*, sont légèrement plus résistants que les animaux non traités : on pense actuellement que cette substance agirait en stimulant le système réticulo-histiocytaire, mais nous n'en sommes encore qu'au stade de l'hypothèse.

De la même façon, des infections simultanées par des parasites autres que la *Babesia* peuvent induire également une résistance non spécifique aux babésioses : mais, en ce qui concerne les parasites possédant une fraction antigénique commune avec la *Babesia* tels que le *Plasmodium* exemple, il n'apparaît pas du tout évident d'impliquer l'existence de facteurs non spécifiques pour justifier cette augmentation de la résistance de l'organisme à l'infection : d'ailleurs, d'après H.W. COX et MILAR (1968), la présence de substances antigéniquement semblables dans le plasma des animaux infectés semblerait expliquer l'immunisation croisée entre *Plasmodium* notamment et *Babesia* chez le rat et la souris.

Il est donc possible, pour expliquer la pathogénie de cette résistance non spécifique, d'ajouter à l'hypothèse de la stimulation du système réticulo-histiocytaire, celle de la modification éventuelle des érythrocytes.

- Immunité acquise :

On entend par immunité acquise l'immunité résultant d'un contact de l'hôte avec le parasite lui-même ou une fraction antigénique de celui-ci, que ce contact soit une infection réelle ou une vaccination, que l'infection soit naturelle ou expérimentale, et enfin que l'affection s'exprime cliniquement ou qu'elle persiste à l'état latent. L'immunité acquise a donc une étiologie complexe.

MAHONEY (1962) et JOHNSTON (1967) ont montré, à l'aide de graphiques, que des bovins vivant dans un biotope à tiques et donc en contact permanent et naturel avec *Babesia bovis* et *Babesia bigemina* présentaient, bien que cliniquement sains, une parasitémie d'abord rapidement croissante jusqu'à l'âge de deux ans environ, puis lentement décroissante au cours des années suivantes. Cette observation constitue bien la preuve que de tels animaux peuvent acquérir une immunité au contact de la *Babesia*. Le déclin de la courbe montre l'acquisition d'un certain degré d'immunité traduisant le développement des mécanismes immunitaires.

Quelques années plus tard, MAHONEY (1969) montre qu'une parasitémie est détectable à intervalles sensiblement réguliers pendant plusieurs années sur des bovins ayant contracté l'affection dans des conditions naturelles et mis à l'abri d'une réinfection ultérieure. Cette observation traduit sans doute la possibilité de variation antigénique qu'a le parasite pour échapper à la surveillance immunitaire de l'hôte. Ce problème, particulièrement important dans la mesure où il explique les difficultés de déterminer une immunité solide et durable en matière de babésiose, sera abordé dans un paragraphe ultérieur spécialement consacré à ce sujet.

Ainsi, MAHONEY pense que l'immunité anti-babésienne n'est réellement importante que chez les animaux âgés, les jeunes n'étant, d'après lui, jamais à l'abri de rechutes éventuelles.

3 - Stade antigéniquement compétent dans l'immunité acquise :

le problème que les auteurs se sont longtemps posés en ce qui concerne l'immunologie de la babésiose et qu'ils n'ont pas encore résolu en toute certitude est le suivant : le parasite est-il immunigène dès son introduction dans l'organisme ? La présence de la *Babesia* dans les tissus de l'hôte est-elle suffisante pour déclencher aussitôt la mise en œuvre des réactions immunitaires ?

Selon les auteurs qui se sont intéressés à ce problème, il semble que les formes infectantes, c'est-à-dire les sporozoïtes, ne soient pas doués d'un pouvoir immunogène important, et ceci pour deux raisons, la première étant que le nombre de parasites inoculés par la tique est toujours très faible donc insuffisant, selon ces auteurs, pour susciter de la part de l'hôte des réactions immunologiques ; la deuxième raison étant que si ce stade était fortement immunogène, il induirait une réaction importante qui, d'une part diminuerait l'incidence de la maladie, d'autre part éviterait les réinfestations ultérieures, ce qui n'est pas le cas sur le terrain.

Le stade parasitaire correspondant à la *Babesia* intra-érythrocytaire semble au contraire être le stade antigéniquement actif.

Néanmoins, d'après MAHONEY (1969), l'immunogénicité des sporozoïtes ne doit tout de même pas être minimisée ; ainsi, selon lui, le peu de contacts entre animaux et parasites en région endémique expliquerait que ceux-ci ne soient pas assez sollicités antigéniquement pour développer une réponse immunitaire normale.

Cependant, quelque soit le stade immunogène, il apparaît aujourd'hui comme une certitude que cette activité présente des fluctuations dues à des variations dans la configuration antigénique du parasite.

4 - Variation de la configuration antigénique du parasite dans l'immunité acquise :

Sans vouloir nécessairement adopter une attitude finaliste, il convient cependant de noter la faculté dont jouit le parasite de modifier sa configuration antigénique, lui permettant ainsi d'échapper à la surveillance immunitaire de l'hôte. Les auteurs ont en effet démontré, en ce qui concerne les babésioses bovines jusqu'à présent, que les réactions immunitaires de l'organisme hôte face à l'infection parasitaire exerçaient sur la *Babesia* une pression de sélection aboutissant à la sélection de variants antigéniques, c'est-à-dire de changements dans la configuration antigénique du parasite : il s'agirait notamment d'antigènes de surface, des agglutinogènes, particuliers à chaque souche.

Ainsi, une souche donnée contre laquelle l'organisme a développé ses mécanismes immunitaires devient hétérologue et l'immunité déterminée par une structure antigénique donnée ne peut plus s'exercer face à une configuration antigénique différente.

On expliquerait de cette façon certaines rechutes constatées sur des animaux, quelle que soit l'espèce, pourtant en bonne voie de guérison clinique : mais il reste bien évident néanmoins qu'une baisse passagère ou durable de l'immunité, pour une raison quelconque, demeure une cause encore importante des rechutes observées. Encore faut-il pouvoir différencier de façon certaine rechutes et réinfections par une souche hétérologue, ce qui n'est pas toujours aisé.

Les mécanismes conduisant au processus de variation antigénique ne sont pas encore connus de façon exacte, mais, selon B.R. BLOOM, l'hypothèse la plus simple serait que la population infectante se compose en fait de plusieurs souches de parasites : la souche prédominante s'accroîtrait, semble-t-il, puis, détruite par la mise en œuvre des mécanismes immunitaires, serait remplacée par une autre souche ;

mais on peut également invoquer l'hypothèse d'une mutation concernant les antigènes de la *Babesia*.

Si la faculté de variation antigénique permet au parasite d'échapper aux réactions immunitaires de l'hôte, il a même été démontré récemment, selon B.R. BLOOM, que dans le cas de la babésiose, le système immunitaire est nécessaire à la survie du parasite dans l'organisme hôte : il semble en effet que l'activation du "complément" soit indispensable pour la pénétration du parasite : d'ailleurs, des souris déficientes en fractions C3 ou C5 ou des souris traitées expérimentalement par du venin de cobra résistent à l'infection.

On conçoit donc déjà, du fait de la possibilité qu'a le parasite de modifier sa configuration antigénique, la difficulté pour l'hôte d'acquérir une immunité dans des conditions naturelles ou expérimentales.

5. Entretien de l'immunité

Le problème que nous nous posons ici est de savoir comment évoluent les phénomènes immunitaires lorsque l'infection a été jugulée : s'agit-il d'une immunité de prémunition (ou de co-infection) c'est-à-dire se manifestant tant que l'hôte héberge des *Babesia*, ou s'agit-il d'une immunité vraie, stérilisante, persistant même après la disparition du parasite de l'organisme hôte ?

Pendant longtemps, le concept d'une immunité de co-infection a prévalu, mais de récents travaux ont démontré la persistance d'une immunité à *Babesia* pendant un délai pouvant aller jusqu'à deux ans et demi après la disparition de toute trace d'infection dans le sang, donc également en l'absence de réinfection ultérieure.

Ces études ont d'abord été faites en ce qui concerne l'espèce bovine avec *Babesia divergens*, *Babesia bovis* et *Babesia bigemina* et l'espèce équine avec *Babesia caballi* ;

SCHINDLER (1970) a ensuite étudié ce phénomène chez le chien avec une souche de *Babesia canis* : tous les chiens, à l'exception d'un seul, ont présenté une immunité contre des souches homologues.

Il ressort de cette étude, que l'on peut considérer comme immunité vraie stérilisante l'immunité développée à l'encontre de souches homologues : il semble, en revanche, que la présence de l'infection soit indispensable au développement d'une immunité à l'encontre de souches hétérologues.

Le problème de la nature de l'immunité est en fait complexe car on se heurte sur le plan pratique à des difficultés manifestes concernant la détermination de la présence ou de l'absence d'infection dans l'organisme hôte : il est en effet très difficile de déceler la présence des *Babesia* en phase métacritique de l'infection. La longévité de l'infection varie également en fonction de l'hôte et du parasite. Enfin, la faculté de mutation antigénique du parasite peut considérablement allonger la durée de l'infection (même à l'état subclinique).

6. Conclusion

L'immunité en matière de babésiose apparaît donc, à l'heure actuelle, comme une réalité évidente que l'on ne saurait remettre en cause, mais, pour différentes raisons, cette immunité demeure fragile :

- elle est souvent incomplète par insuffisance du contact hôte-parasite ;
- elle est limitée dans le temps, la durée d'immunité pouvant dépendre de l'hôte ou du parasite ;
- elle peut se rompre brusquement du fait des variations possibles de configuration antigénique ;
- la réponse immunitaire de l'hôte dépend d'une part des conditions dans lesquelles se trouve l'hôte (*stress*, maladie intercurrente etc...), d'autre part des modifications de son environnement.

Il convient de noter l'existence de souches hétérologues à la souche immunisante qui explique l'inefficacité parfois constatée des phénomènes immunitaires.

En conclusion, l'immunité à *Babesia* est une immunité non absolue, provisoire, spécifique de souche, et toujours sujette à des ruptures.

B. Mécanisme de l'immunité

L'objet de ce paragraphe est de déterminer quels sont les mécanismes immunitaires intimes propres aux babésioses, c'est-à-dire de savoir si l'immunité est à médiation humorale, cellulaire ou à la fois humorale et cellulaire : il semble que les deux mécanismes interviennent dans des conditions d'ailleurs comparables.

Cette conclusion était prévisible, étant donné d'une part la structure antigénique du parasite, d'autre part la forte réactivité de la rate dans toutes les affections à *Babesia*.

Avant d'aborder le cas particulier des phénomènes immunitaires propres aux babésioses, nous ferons quelques rappels d'immunologie fondamentale.

1. Rappels immunologiques

Ces rappels permettront de mieux comprendre les mécanismes dont dispose l'hôte pour se défendre de l'infection babésienne.

Ce sont les expériences de thymectomie de MILLER sur des embryons de Mammifères et d'Oiseaux, et celles de bursectomie de GOOD sur des embryons de poulets qui ont permis de donner une tentative d'explication, d'ailleurs encore adoptée de nos jours, des mécanismes de défense d'un organisme contre l'introduction dans ses tissus d'une structure antigénique, qu'elle soit d'origine infectieuse ou parasitaire.

On distingue deux groupes de lymphocytes en fonction de l'itinéraire qu'ils suivent dans l'organisme au sortir de la moëlle osseuse :

- les lymphocytes T qui effectuent un passage par le thymus
- les lymphocytes B qui n'en effectuent pas : chez les Oiseaux, ils passent par un organe particulier, la Bourse de Fabricius, organe dont on ne connaît pas l'équivalent chez les Mammifères : ils pourraient alors provenir directement de la moëlle osseuse.

Moëlle osseuse, thymus et bourse de Fabricius constituent les organes lymphoïdes primaires : de là, les lymphocytes B et T vont gagner les organes lymphoïdes secondaires représentés essentiellement par la rate, les nœuds lymphatiques, les plaques de Peyer et les amygdales.

Une différence fondamentale distingue les organes lymphoïdes primaires des organes lymphoïdes secondaires, à savoir que dans les organes lymphoïdes primaires, la multiplication lymphocytaire est indépendante de l'antigène alors que, dans les organes lymphoïdes secondaires, elle en dépend intimement. C'est d'ailleurs à leur niveau qu'a lieu la coordination macrophage-lymphocyte.

Il convient de remarquer qu'au niveau des organes lymphoïdes secondaires, les lymphocytes T-dépendants et les lymphocytes B-dépendants, se regroupent en des zones anatomiquement bien distinctes.

L'ensemble des modifications morphologiques et physiologiques du lymphocyte permet de définir un cycle de différenciation lymphocytaire :

- Réponse à médiation humorale :
 lymphoblaste $\rightarrow$ petit lymphocyte B $\xrightarrow{\text{Ag}}$ Immunoblaste B $\rightarrow$ plasmocyte
- Réponse à médiation cellulaire :
 lymphoblaste $\rightarrow$ petit lymphocyte T $\xrightarrow{\text{Ag}}$ Immunoblaste T $\rightarrow$ petit lymphocyte T

Après introduction de l'agent pathogène dans l'organisme, l'antigène agit d'abord sur les macrophages puis, par l'intermédiaire de ceux-ci sur les lymphocytes eux-mêmes : après réception du signal membranaire, les lymphocytes donnent naissance à des cellules immunoblastiques dans tous les cas, puis les immunoblastes issus de lymphocytes T engendrent des petits lymphocytes T alors que les immunoblastes issus de lymphocytes B engendrent des plasmocytes.

L'existence d'une action synergique entre les deux types de lymphocytes dans le sens d'une assistance de la part des lymphocytes T envers les lymphocytes B constitue aujourd'hui une certitude mais la nature et l'importance de ces interrelations sont encore du domaine de l'imprécision.

Ces rappels généraux concernant le mécanisme fondamental de la réponse immunitaire étant faits, nous pouvons maintenant aborder le cas particulier de l'immunité dans les babésioses, en étudiant successivement la réponse immunitaire à médiation humorale, puis la réponse à médiation cellulaire.

EMBRYON

Ilôts de WOLFF et PANDER
(et placenta ?)

FOETUS

Foie fœtal

Moëlle osseuse



Prélymphocyte T

Prélymphocyte B

ORGANES LYMPHOIDES
PRIMAIRES

Thymus

Bourse de
Fabricius

(équivalent
Mammifères ?)

NOUVEAU-NE

Lymphocytes T

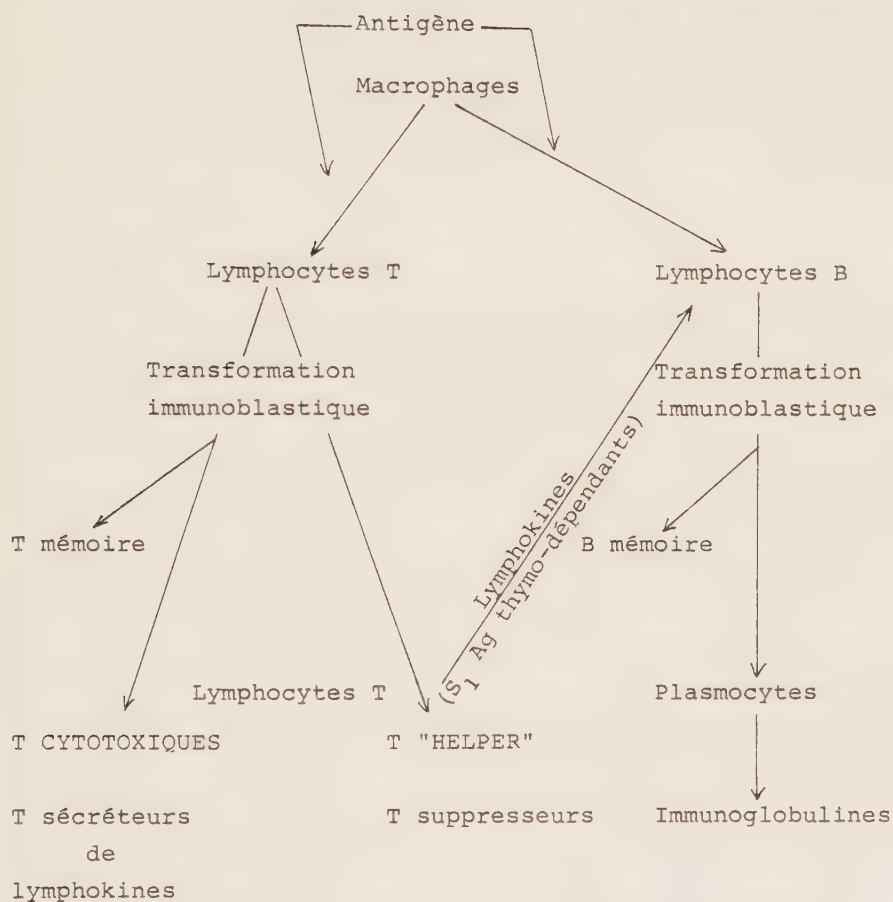
Lymphocytes B

ORGANES LYMPHOIDES SECONDAIRES

- Nœuds lymphatiques
- Rate
- Plaques de Peyer
- Amygdales

Lymphocytes T-dépendants	Lymphocytes B-dépendants
-----------------------------	-----------------------------

SCHEMA DE LA DIFFERENCIATION LYMPHOCYTAIRE



REPONSE IMMUNITAIRE A
MEDIATION CELLULAIRE

REPONSE IMMUNITAIRE A
MEDIATION HUMORALE

- Immunité cellulaire
- Hypersensibilité de type retardé

- Immunité humorale
- Hypersensibilité de type immédiat

REPRESENTATION GRAPHIQUE DES PHENOMENES IMMUNITAIRES

2. Réponse immunitaire à médiation humorale

L'introduction dans l'organisme hôte de *Babesia* à structure antigénique entraîne la production, par le système immunitaire de l'hôte, d'anticorps spécifiques du parasite.

- Nature des anticorps

Il n'a pas encore été réalisé, à l'heure actuelle, d'études précises concernant la question dans l'espèce canine; les seules données que nous possédons intéressent l'espèce bovine principalement.

Les examens sérologiques réalisés sur des animaux infectés ont permis la mise en évidence, dans cette espèce, d'immunoglobulines G et M. De même COX et TURNER (1970) montrent la présence d'IgG et d'IgM dans des sérums de souris infectées par *Babesia microti*.

Les diverses observations sur le terrain et expérimentations en laboratoire révèlent que ces anticorps, outre le fait qu'ils sont témoins de l'infection, ont en plus un pouvoir protecteur évident contre une éventuelle réinfection. La protection induite par ces immunoglobulines n'est pas très spécifique ; ainsi, une injection préalable d'immunoglobulines G prélevées sur un rongeur en état d'infection s'est avérée protéger un chien de la babésiose canine.

Les travaux de MAHONEY ont montré, en utilisant la technique d'hémagglutination passive après gel filtration, que ce sont les Ig M qui apparaissent les premières avec un taux assez élevé mais déclinant rapidement, alors que les Ig G, au contraire, ont au début un taux lentement croissant mais demeurant assez longtemps élevé.

Les anticorps sériques apparaissent environ quinze jours à un mois après la prise de l'infection et restent décelables dans le sérum pendant un temps variable selon la méthode sérologique utilisée.

- Détection des anticorps

De nombreuses techniques sérologiques de détection des anticorps ont vu le jour progressivement avec l'intérêt qu'une meilleure connaissance des phénomènes immunitaires des babésioses a suscité chez les parasitologistes.

a. Intérêt

La connaissance puis la maîtrise des techniques sérologiques de détection des anticorps sont intéressantes à double titre :

- dogmatique : elles permettent en effet de mieux connaître la pathogénie de l'infection puisque les variations du taux d'anticorps reflètent fidèlement la réaction de l'organisme à l'infection.

- médical :

- diagnostique : cela permet le dépistage des infections subcliniques, là où les manifestations cliniques sont absentes ou insuffisamment parlantes pour pouvoir établir un diagnostic clinique de certitude.

- pronostique : en réalisant une cinétique d'anticorps, il est possible de connaître l'évolution de la babésiose et de formuler ainsi un pronostic.

- prophylactique et thérapeutique : sur un plan purement théorique, un transfert de sérum immun prélevé sur des animaux ayant développé une immunité devrait permettre de traiter d'autres animaux en état d'infection et de protéger des animaux encore sains mais menacés par la babésiose.

La mise au point de méthodes de détection des anticorps antibabésiens permet donc une approche à la fois plus objective et plus quantitative de l'affection : cela est d'autant plus intéressant que les formes cliniques atypiques et les formes latentes apparaissent de plus en plus fréquentes.

b. Méthodes de détection

La première méthode utilisée pour un diagnostic sérologique a été la réaction de fixation du complément (C.F.), sans doute en raison de la bonne maîtrise de la technique et de sa sensibilité acceptable.

Ce n'est que depuis les quinze dernières années que l'on a essayé avec succès l'application au sérodiagnostic de la babésiose d'autres méthodes telles que : l'immuno-fluorescence indirecte (I.F.I.), la diffusion sur gélose, l'hémagglutination passive (H.A.P.), cela dans le but d'obtenir des méthodes de grande sensibilité et hautement spécifiques.

La réaction E.L.I.S.A. "Enzyme Linked Immuno-Sorbent-Assay" appliquée depuis quelques années seulement donne, dans ce domaine, des résultats prometteurs quant à son extension d'utilisation.

Nous allons étudier successivement ces différentes méthodes de façon à en analyser les avantages et les inconvénients respectifs.

- Fixation du complément

C'est la méthode à la fois la plus ancienne et la plus fréquemment utilisée pour le diagnostic des babésioses, du moins jusqu'à ces dernières années.

HIRATO et al. décrivent pour la première fois en 1945 une réaction de fixation du complément appliquée au diagnostic de la babésiose équine, par détection d'anticorps sériques chez des chevaux infectés par *B. caballi* : l'antigène utilisé était constitué par les stroma d'hématies prélevées sur un cheval reconnu en état d'infection aiguë. Ce test a été appliqué depuis au sérodiagnostic des babésioses bovines et ovines : SCHINDLER et DENNIG l'ont ensuite essayé avec succès dans l'espèce canine en 1962.

Caractéristiques

. Les anticorps fixant le complément sont décelables rapidement, présentant un pic deux à trois semaines après le début de l'infection.

. En revanche, leur taux diminue assez vite et s'anule même avant la fin de l'infection dans les espèces bovine et ovine : ainsi, la sérologie anti-babésienne ne reste positive que pendant sept mois environ avec *Babesia bovis* et quatre mois seulement avec *Babesia bigemina*: Dans l'espèce équine, les anticorps fixant le complément restent décelables pendant tout le temps que persiste l'infection et parfois même après.

. Les antigènes utilisés sont des antigènes solubles ou particuliers.

. La réaction présente une bonne spécificité en ce qui concerne les babésioses puisque MAHONEY, en 1967, ne détecte que 1 à 2% de réactions faussement positives sur des animaux non infectés.

Il y a peu de réactions croisées dans l'espèce bovine entre *Babesia bovis* et *Babesia bigemina* : quand cela arrive ce n'est que pendant une courte période suivant la phase aiguë de l'infection.

Il n'y a pas non plus de sérologie croisée entre *Babesia rhodaini* et *Babesia canis*.

Principe :

Certains complexes antigènes-anticorps ont la faculté de fixer le complément de la même façon que le système hématis - hémolysines : ce phénomène étant invisible, il convient d'utiliser dans un second temps le système hématis-hémolysines pour révéler la fixation ou la non-fixation du complément par le complexe antigène-anticorps.

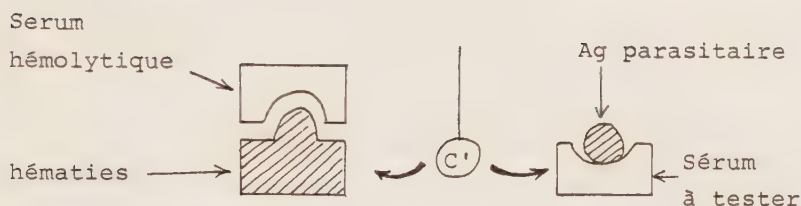


Schéma du principe de la réaction de fixation du complément

Réactifs

. Le complément : on utilise en général du complément de cobaye conservé par lyophilisation. Il convient d'en réaliser un titrage préalable de façon à déterminer le taux optimal auquel il sera utilisé et de mettre en évidence un éventuel pouvoir anticomplémentaire de l'antigène.

. Le système hémolytique : l'antigène est constitué par des hématies de mouton et le sérum hémolytique par du sérum de lapin anti-hématies de mouton.

. L'antigène : en ce qui concerne le sérodiagnostic des babésioses, l'antigène utilisé dans les réactions de fixation du complément est obtenu à partir de cultures de *Babesia*, problème délicat sur lequel nous reviendrons dans un chapitre ultérieur spécialement consacré à ce sujet. C'est, actuellement, l'obstacle majeur à la réalisation des sérodiagnostics de babésiose. L'antigène doit être préalablement titré.

. Le sérum : il est constitué par le sérum de l'animal suspect et est donc d'obtention facile. Il doit subir, avant son utilisation, une inactivation destinée à détruire le complément qu'il contient.

Technique :

La réaction est réalisée en deux temps :

. Dans un premier temps, le sérum suspect et l'antigène correspondant sont mis en présence du complément.

. Dans un second temps, le système hémolytique est ajouté au mélange précédent.

Lecture des résultats :

Elle peut se faire soit par appréciation visuelle, soit par photométrie après centrifugation.

Dans le premier cas, la réaction est positive s'il n'y a pas d'hémolyse et négative s'il y a hémolyse.

Dans le second cas, l'expression des résultats peut être donnée en dose d'hémolyse à 50%.

Valeur de la réaction :

La réaction de fixation du complément constitue pour le sérodiagnostic des babésioses un test simple de mise en œuvre donc facilement praticable, jouissant d'une assez grande fiabilité, quantitatif et reproductible.

En conclusion, cette technique reste parfaitement utilisable et est encore très adoptée en dépit de son ancienneté.

- Immunofluorescence indirecte (I.F.I.)

Ce sont des réactions hautement spécifiques pour chaque espèce et qui présentent l'avantage de rester positives plus longtemps que les réactions de fixation du complément : ROSS et LOHR (1968) ont montré que ces anticorps sériques étaient décelables pendant une durée allant de dix-huit à vingt-quatre mois lors de la babésiose bovine à *Babesia bigemina*, et pendant treize mois seulement dans la babésiose à *Babesia bovis* d'après

JOHNSTON et TAMMEMAGI (1969).

D'abord mis au point pour le sérodiagnostic des babésioses bovines, ovines et équine, ce test a été adapté au diagnostic de la babésiose du chien à *Babesia canis* par PRADALIE (1968) à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, selon la méthode de SCHIFFER et WINTER à l'acridine orange.

Principe :

Le principe de la réaction d'immunofluorescence indirecte est de visualiser la présence ou l'absence de réaction antigène-anticorps par le procédé de fluorescence, cela grâce à un conjugué fluorescent venant se fixer sur le complexe Antigène-Anticorps après sa formation.

Cette méthode, dite méthode "sandwich" du fait que l'anticorps est entouré d'une part par l'antigène, d'autre part par le conjugué fluorescent, a été mise au point par WELLER et COONS en 1954.

Réactifs :

. Le sérum : constitué par le sérum de l'animal suspect, On peut l'utiliser à l'état frais ou après conservation par congélation. On préfère généralement le sérum au plasma compte tenu du fait que l'addition d'une substance anticoagulante apporte un risque supplémentaire de fluorescence non spécifique qu'il convient à tout prix d'éviter.

. Les antigènes : contrairement au test de fixation du complément, ce sont toujours des antigènes figurés que l'on utilise : cela peut être soit le parasite lui-même, soit des coupes histologiques contenant le parasite. Dans le cas particulier de la babésiose, il s'agit toujours d'étalements sur lames de verre de sang provenant d'animaux parasités.

. Le conjugué fluorescent : on utilise des préparations trouvées dans le commerce de conjugué fluorescent anti-globulines de diverses espèces humaines ou animales. Le marquage fluorescent est effectué grâce à un fluorochrome : il s'agit le plus souvent de l'isothiocyanate de fluores-

céine (I.C.T.F.), mais on peut également employer la rhodamine lisamine B (RB 200).

Matériel :

La réalisation du test d'immunofluorescence indirecte nécessite un appareillage assez complexe comprenant :

- . Un dispositif d'observation avec source lumineuse à grande puissance, un système optique comprenant des filtres d'excitation et des filtres d'arrêt, un miroir, des objectifs de grossissement 20 ou 40 et enfin un milieu de montage de pH nécessairement alcalin pour ne pas modifier la configuration du conjugué fluorochrome-protéine.

- . Des lames porte-objet minces et parfaitement dégraissées

- . Un fixateur : l'acétone

- . Une solution de lavage qui doit être un tampon phosphate salin à pH 7,2

- . Une solution de montage constituée par de la glycérine tamponnée à pH 7,2 très pure

- . Un contre-colorant : le bleu Evans R.A.L. en solution à 1/500 000 dans du tampon pH 7,2 a donné les meilleurs résultats.

Technique :

La réaction est réalisée en deux temps :

- . Dans un premier temps, il y a mise en contact de l'antigène et de l'anticorps : un lavage permet ensuite d'éliminer les anticorps non fixés.

- . Dans un second temps, il y a adjonction au mélange précédent des antiglobulines marquées par le fluorochrome : un deuxième lavage permet d'éliminer les antiglobulines non fixées.

Lecture des résultats

Elle est fait sous microscope à lumière ultraviolette.

- . Premier cas : la réaction est positive : il y a d'abord fixation de l'anticorps spécifique sur l'antigène,

puis le conjugué fluorescent anti-globulines vient se fixer sur l'anticorps dont il est spécifique.

Il y a ainsi formation d'un complexe fluorescent. On observe une fluorescence spécifique jaune verte dont l'intensité est exprimée en nombre de croix.

. Second cas : la réaction est négative : l'anticorps n'étant pas spécifique de l'antigène, il n'y a aucune possibilité de fixation antigène-anticorps. Lors de l'addition du conjugué fluorescent, on n'observe donc aucune fluorescence, mais seulement une coloration rouge due au bleu Evans sous lumière ultra-violette.

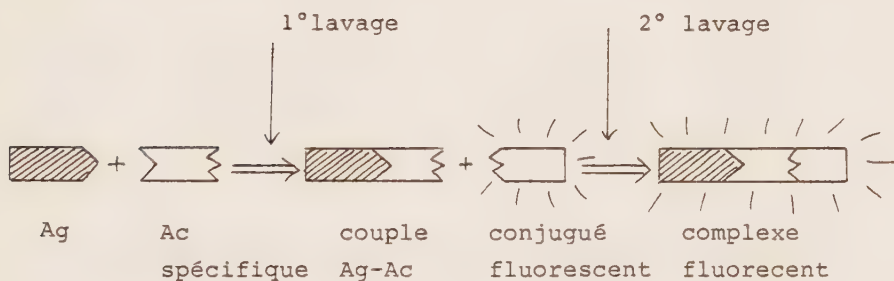


Schéma de la réaction d'immunofluorescence indirecte
positive

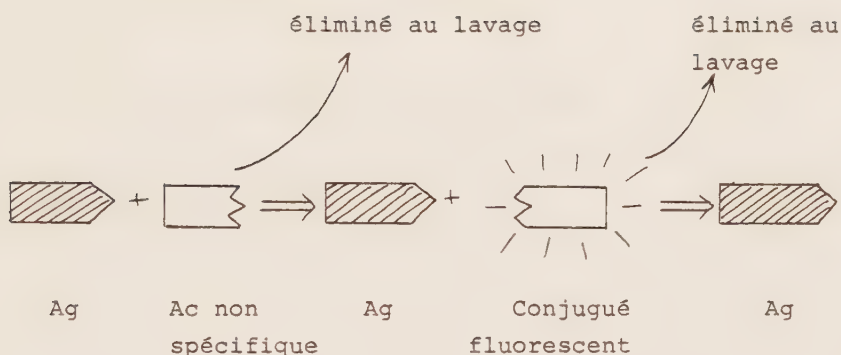


Schéma de la réaction d'immunofluorescence indirecte négative

Valeur de la réaction

C'est une réaction jouissant d'une grande spécificité pour chaque espèce et permettant un sérodiagnostic tardif.

C'est également une réaction très sensible qui a l'avantage de pouvoir être réalisée avec des antigènes incomplets (non précipitants, non agglutinants, non fixant le complément).

En revanche, c'est une réaction assez difficile à interpréter car elle donne souvent lieu à des fluorescences non spécifiques dues à des impuretés dans le sérum et qui faussent la lecture des résultats.

Il convient de remarquer qu'il n'existe pas de réactions croisées entre *Babesia equi* et *Babesia caballi* (MUDDEN et HOLBROOK 1968). Selon LUDFORD (1969) il n'existe que de très faibles réactions croisées entre *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* et *Babesia canis*.

En conclusion, en dépit de certains avantages indéniables sur la méthode précédente, la réaction d'immuno-fluorescence indirecte ne l'a pas supplantée du fait de sa difficulté d'interprétation.

. Réactions d'agglutination

On a mis au point et utilisé différentes techniques d'agglutination concernant le sérodiagnostic des babésioses d'abord bovines, puis équine. CURNOW et CURNOW utilisèrent les premiers la réaction d'hémagglutination passive (P.H.A.) en 1967 pour diagnostiquer la babésiose à *Babesia bovis* : les résultats qu'ils obtinrent étaient comparables à ceux fournis par la réaction de fixation du complément. GOODGER (1971) améliore la sensibilité de la méthode en purifiant des antigènes solubles de *Babesia bovis* et *Babesia bigemina*.

D'après MAHONEY, la détection des anticorps par les méthodes d'agglutination reste possible pendant quatre ans, donc beaucoup plus longtemps que par les méthodes précédentes.

LOHR et ROSS adaptèrent, en 1969, la réaction d'agglutination en tube capillaire à la détection d'anticorps agglutinants dans la babésiose bovine à *Babesia bigemina* et mirent en évidence une possibilité de sérodiagnostic aussi prolongée que par la réaction d'hémagglutination passive.

Nous envisagerons successivement les deux méthodes :

. Réaction d'agglutination sur latex en
tube capillaire (C.T.L.A.)

Principe

La réaction d'agglutination sur latex en tube capillaire est basée sur le principe suivant :

L'antigène parasitaire est absorbé sur des particules de latex inertes. Ces particules ainsi sensibilisées sont ensuite mises en contact avec le sérum contenant les anticorps, et vont jouer dans la réaction le rôle d'agglutinogènes vis-à-vis des anticorps agglutinants présents dans le sérum et permettre ainsi le titrage de ces anticorps.

Réactifs

- Une suspension de latex dont les particules ont un diamètre moyen compris entre 0,300 et 0,850 microns. Des dilutions sont ensuite réalisées dans un tampon choisi en fonction de l'antigène utilisé : on choisit finalement la dilution dont la densité optique est comprise entre 0,33 et 0,36.

- Une solution d'antigène parasitaire : l'antigène doit être utilisé à une dilution optimale, donc préalablement titré. On choisit comme valeur du rapport latex/antigène, la valeur qui ne donne aucune agglutination avec le sérum négatif et une agglutination maximale en présence du sérum positif.

La sensibilisation des particules de latex par la solution antigénique se fait juste avant l'exécution de la réaction.

- Les anticorps : ils sont représentés par le sérum à éprouver.

Un sérum témoin positif et un sérum témoin négatif seront joints aux sérums à examiner.

Technique

On fait réagir différentes dilutions du sérum à éprouver avec la suspension antigénique de latex précédemment préparée puis l'ensemble est agité de façon à obtenir un mélange homogène.

Lecture des résultats

La lecture des résultats peut se faire immédiatement ou, ce qui est préférable, après deux à trois minutes de repos. Elle consiste en la comparaison des agglutinations obtenues avec les différentes dilutions de sérum à éprouver à celles des sérums témoins positifs et négatifs.

La lecture des résultats est exprimée en intensité de la réaction, c'est-à-dire en fonction de la présence ou de l'absence d'agglutination et de l'ampleur du phénomène d'agglutination.

Valeur de la réaction

C'est une réaction spécifique et d'une sensibilité suffisante pour un diagnostic de dépistage. Toutefois, ce test est moins sensible, surtout en dosage quantitatif, que le test de fixation du complément.

C'est malgré tout une réaction de réalisation simple, économique et rapide.

Application au sérodiagnostic de la babésiose canine

RISTIC, continuant les travaux qu'il avait entrepris en 1962, prépare, en 1969, un antigène plus stable à partir de chiens infectés par *Babesia canis* ; l'antigène est conservé par lyophilisation et reconstitué au moment de son utilisation. Employé dans une réaction d'agglutination en tube capillaire, cet antigène s'avère très utile pour le diagnostic des formes cliniques et subcliniques de babésiose canine, et ceci est d'autant plus intéressant que les formes infracliniques sont très fréquentes chez le chien.

Du point de vue cinétique, on a observé que les anticorps sériques de chiens infectés de babésiose sont décelables par cette méthode dès une quinzaine de jours après l'infection, qu'ils atteignent un taux maximal de 1/640 deux mois plus tard environ, puis que le taux diminue et persiste à des valeurs moyennes de 1/40 à 1/80 pendant les quatre mois suivants, avant de s'annuler.

Cette réaction en tube capillaire s'est avérée également applicable au sérodiagnostic de la babésiose humaine, en ce qui concerne les quelques cas recensés jusqu'à aujourd'hui.

. Réaction d'hémagglutination passive (H.A.P.)

Principe

Dans les techniques d'hémagglutination, les antigènes sont fixés sur les globules rouges qui doivent être préalablement traités par un agent chimique assurant une liaison solide entre les protéines antigéniques et la surface des hématies.

Réactifs

- Un agent de liaison qui peut être :
 - + une solution d'acide tannique (acide tannique purifié) au 1/100
 - + de la benzidine diazotée
 - + de la glutaraldéhyde (solution commerciale à 25% à diluer au 1/10 dans le tampon au moment de l'emploi)
- Un tampon phosphate pH 7,2
- Des globules rouges de Mouton
- Le sérum à éprouver
- L'antigène : il est représenté par la solution antigénique spécifique.

Technique

La réaction est réalisée en deux temps :

- Sensibilisation des hématies : cette phase consiste à mettre en présence les globules rouges de Mouton et l'agent de liaison, puis d'ajouter la solution antigénique de façon à obtenir des hématies sensibilisées au sens immunologique du terme .

- Exécution de la réaction proprement dite : le sérum à éprouver est dilué en progression géométrique : on ajoute alors dans chaque tube la suspension de globules rouges sensibilisés.

Lecture des résultats

Elle se fait après un temps de repos à température ordinaire et consiste en l'observation du fond des tubes à hémolyse :

- La réaction est positive si l'on observe une vaste plage en matelas au fond du tube à hémolyse.

- La réaction est négative si l'on observe un bouton rouge à la place.

Valeur de la réaction

Il s'agit là encore d'une réaction sensible, la sensibilité étant voisine de celle de la réaction de fixation du complément, et simple d'application.

La réponse immunitaire est caractérisée par l'obtention d'un titre en anticorps maximal très rapidement après l'infection, puis par la diminution progressive de ce taux.

En conclusion, le principal avantage des réactions d'agglutination réside dans le fait que les anticorps sont décelables longtemps après le début de l'infection et persistent même parfois après que l'infection soit terminée.

. Diffusion sur gélose

Les réactions de diffusion sur gélose font partie des réactions de précipitation in vitro, c'est-à-dire que l'on recherche la formation d'un précipité dans un milieu gélosé.

Principe

Par la mise en présence d'un antigène soluble et d'un sérum contenant des anticorps dans des proportions convenables, on observe la formation d'un complexe antigène-anticorps insoluble.

La réaction de double diffusion sur gélose s'effectue sur boîte de Pétri selon la méthode bidimensionnelle décrite par OUCHTERLONY.

Historique

RISTIC et SIBINOVIC utilisèrent, en 1964, un antigène stable à la chaleur, l'antigène polysaccharidique, obtenu par précipitation avec le protamine sulfate à partir d'hématies de chevaux en phase aiguë d'infection par *Babesia caballi*.

Ils mirent en évidence des réactions de précipitation en mettant en présence l'antigène polysaccharidique avec des sérums de chevaux développant ou ayant développé une babésiose.

Matériel et réactifs

- Une boîte de Pétri
- de la gélose
- l'antigène polysaccharidique
- le sérum à éprouver sur lequel on pratique différentes dilutions de façon à réaliser une étude quantitative de l'infection.

Technique

La réalisation de la réaction comprend trois étapes successives :

- 1° étape : préparation de l'antigène polysaccharidique (PS). Elle est réalisée à partir d'un cheval splénectomisé en phase aiguë d'infection : après saignée et récolte du sang de l'animal, celui-ci fait l'objet d'un traitement de laboratoire particulièrement complexe dont la description dépasserait les limites de notre travail.

- 2°étape : préparation de la gélose : on utilise généralement une gélose à 1,5 % préparée extemporanément. Une couche de 5 à 6 mm d'épaisseur de gélose est coulée dans une boîte de Pétri. Après solidification, un réservoir central et plusieurs réservoirs périphériques sont pratiqués dans le gel à l'aide d'un emporte-pièce.

- 3° étape : exécution de la réaction proprement dite. L'antigène est déposé dans la cupule centrale, les dilutions de sérum dans les cupules périphériques : on place alors la boîte de Pétri en atmosphère humide à l'abri des variations de température.

Lecture_des_résultats

On recherche tous les jours pendant une semaine l'apparition de traits de précipitation : chaque ligne de précipitation correspond à un système antigène-anticorps et son siège dépend de la vitesse de diffusion et de la concentration des deux réactifs.

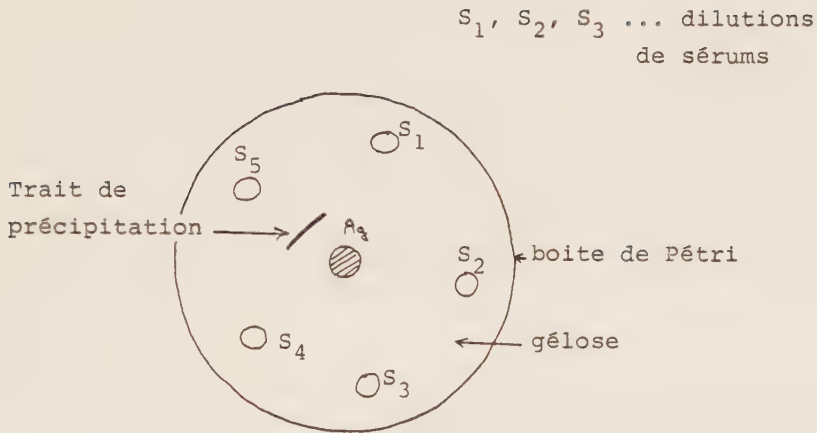


Schéma de la réaction de double diffusion sur gélose

Le titre du sérum correspond à la dilution sérique limite donnant un trait de précipitation.

Valeur de la réaction

Les résultats obtenus avec cette méthode sont tout à fait comparables avec ceux fournis par la réaction d'hémagglutination passive : le taux d'anticorps décelables apparaît rapidement après le début de l'infection (environ vers le 17ème jour), cependant le taux baisse plus rapidement que dans la méthode précédente, ainsi les anticorps ne sont décelables que quinze mois après l'infection.

Ce sont des réactions très spécifiques : ceci a été démontré chez le cheval par l'absence de réactions avec des sérums de chevaux atteints d'autres affections, y compris l'Anémie Infectieuse des Equidés.

L'inconvénient majeur de cette méthode est la lenteur de lecture des résultats, mais la rapidité d'exécution et la facilité d'interprétation de la réaction en font cependant une méthode parfaitement utilisable dans le cadre du sérodiagnostic des babésioses animales.

. Méthode E.L.I.S.A.

Plus récente que toutes les méthodes sérologiques que nous venons de voir, la méthode E.L.I.S.A., découverte il y a quelques années, a été appliquée récemment au sérodiagnostic des babésioses. La technique que nous décrirons ici a été mise au point à l'I.F.F.A.-Mérieux par Y. MOREAU et son équipe pour le sérodiagnostic de la babésiose canine et c'est par cette méthode qu'ont été réalisées les sérologies des chiens de notre expérimentation.

Principe

C'est une méthode immuno-enzymatique dont le principe est calqué sur celui du R.A.S.T. : la fixation de l'anticorps spécifique sur l'antigène est révélée à l'aide d'un "conjugué". Il s'agit, dans le cas général, de l'association entre une enzyme et un anticorps spécifique des immunoglobulines de l'espèce considérée. L'activité enzymatique de l'enzyme utilisée est révélée par un substrat qui lui est spécifique.

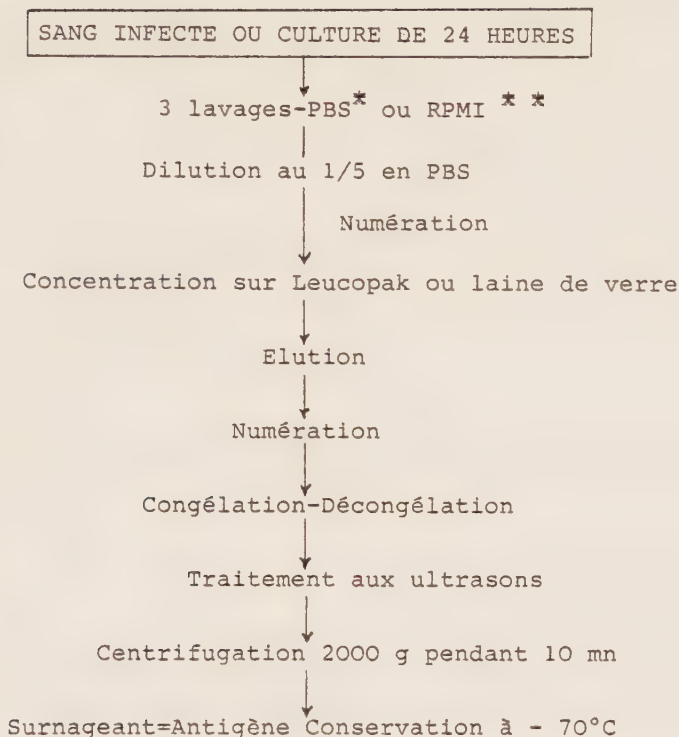
Réactifs (utilisés à l'I.F.F.A.-Mérieux)

- Une plaque de polystyrène à cupules, support de la réaction

- Le conjugué : il s'agit, dans ce cas, de l'association peroxydase-protéine A (qui a une certaine affinité pour la fraction Fc des immunoglobulines de certaines espèces de mammifères). Le marquage de la protéine A se fait selon la méthode d'AVRAMEAS.

- Le sérum à éprouver

- L'antigène : sa préparation est complexe : le schéma suivant en donne les principales étapes :



Préparation de l'antigène dans la méthode E.L.I.S.A.

(d'après la technique mise au point par Y. MOREAU, N.LAURENT
et A. SOULA)

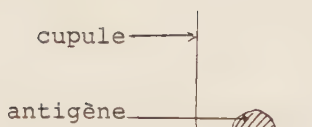
- Un tampon carbonate à pH 9,6 pour diluer l'antigène
- Un tampon PBS additionné de Tween 20 (0,05%) et de BSA à 1%.
- De l'orthotolidine, substrat de la peroxydase.

Technique : la réaction est réalisée en quatre temps :

- dans un premier temps, l'antigène est fixé sur le fond de la cupule par un contact d'une heure à 37°C ou d'une nuit à 4°C en présence d'un tampon carbonate à pH 9,6

* PBS = Phosphate Buffer Saline,

** RPMI =Rockwell Park Medical Institute



Fixation de l'antigène

3 lavages successifs (eau physiologique + Tween 20)

- Dans un second temps, on ajoute le sérum à éprouver et on laisse incuber 30 minutes à la température du laboratoire



Addition des anticorps

3 lavages (PBS + Tween 20 + BSA à 1 %)

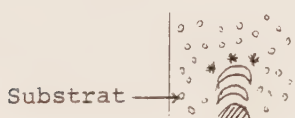
- Dans un troisième temps, on ajoute le conjugué : l'anticorps spécifique est alors encerclé d'une part par l'antigène d'autre part par le conjugué.



Addition du conjugué

Lavages

- Dans un quatrième temps enfin, on révèle l'activité enzymatique de la peroxydase par l'ortholidine



Addition du substrat

Lecture des résultats

Elle peut être faite à l'œil nu ou plus précisément à l'aide d'un photomètre avec une longueur d'onde de 630 nm. On enregistre alors la densité optique donnée par le sérum dilué au 1/100.

Valeur de la réaction

La comparaison des réactions exécutées selon les deux méthodes, fixation du complément et E.L.I.S.A., montre que la seconde présente par rapport à la première les avantages suivants :

- elle est remarquablement sensible et jouit d'une grande spécificité.

- Elle permet de mettre en évidence à la fois les anticorps Ig M et Ig G, la protéine A ayant, chez le chien, une excellente affinité pour les deux classes d'anticorps.

- Elle peut détecter rapidement une infection récente cliniquement inapparente, aussi bien que des infections en cours ou anciennes.

- Elle permet de déceler les anticorps pendant une durée assez longue (6 à 7 mois) alors qu'avec la fixation du complément, on observe un pic 5 à 7 semaines après l'infection expérimentale de l'animal, puis le taux d'anticorps diminue progressivement pour disparaître complètement en 5 à 6 mois.

- Elle est facile à mettre en œuvre et à interpréter.

- Elle ne se heurte pas à des problèmes tels que, par exemple, l'anticocomplémentarité de certains antigènes ou sérums.

En revanche, la réaction de fixation du complément présente l'avantage sur la réaction E.L.I.S.A. de pouvoir utiliser aussi bien des antigènes particuliers que solubles.

En conclusion, en dépit de cet inconvénient mineur, la méthode E.L.I.S.A. est devenue aujourd'hui une méthode de choix pour la sérologie des babésioses.

Taux des anticorps

Les auteurs ont remarqué que dans toutes les babésioses, quelle que soit l'espèce-hôte considérée, les anticorps décelés par les différentes méthodes précitées n'atteignent jamais des taux très élevés, même après une babésiose clinique sévère et bien jugulée par les mécanismes de défense de l'hôte. Ils ont remarqué, de la même façon, que la période pendant laquelle les anticorps sont décelables varie selon les cas d'infection.

Il est incontestable que le taux des anticorps décelés de même que leur période de détection dépend en premier lieu de la sensibilité de la technique utilisée ; néanmoins, il apparaît de plus en plus probable que la parenté antigénique entre l'hôte et le parasite infectant intervient également.

La faiblesse du taux d'anticorps et leur disparition souvent précoce sont d'autant plus imprévues que, du fait de l'existence d'une immunité de prémunition, on s'attendrait plutôt à ce que la présence constante du parasite dans l'organisme hôte sollicite continuellement ses réactions de défense. Au contraire, le taux baisse progressivement, après avoir rapidement atteint un pic d'intensité, alors que l'infection se poursuit.

Plusieurs tentatives d'explication ont été données à ce sujet :

- la variation de l'antigène parasitaire a été invoquée en premier lieu : mais cela ne paraît pas être la cause principale.

- DRESSER (1962) invoque, quant à lui, une tolérance immunologique partielle, tolérance qui pourrait résulter d'un contact prolongé entre la *Babesia* et l'hôte. Mais MAHONEY démentit cette hypothèse en 1964 en faisant observer qu'une surinfection ralentit le déclin en anticorps au lieu de l'accélérer.

- MAHONEY propose alors une troisième hypothèse qui semble la plus crédible : les constituants spécifiques d'espèces du parasite n'auraient qu'un faible pouvoir antigène et n'arriveraient à stimuler la réponse immunitaire de l'hôte qu'à condition d'être présents à haute concentration : ainsi, pendant une infection subclinique, la formation résultante d'anticorps décelables serait trop faible pour maintenir un taux constant, d'autant que, selon cet auteur, les anticorps formés seraient rapidement couplés avec les antigènes circulants, n'étant alors plus détectables par les méthodes sérologiques.

Après avoir étudié successivement la nature des anticorps, les méthodes dont on dispose actuellement pour les détecter et donné une idée des taux qu'ils peuvent atteindre chez les animaux parasités, nous allons maintenant envisager quelles sont les propriétés de ces anticorps, autrement dit essayer de déterminer comment s'exerce l'activité protectrice envers l'organisme hôte.

Activité protectrice des anticorps

Découverte de cette protection

C'est HALL qui, le premier, mit en évidence, de 1960 à 1963, le rôle protecteur dans l'espèce bovine des anticorps sériques contre le parasite, en réussissant un transfert passif d'immunité à *Babesia bovis* de la mère à son produit, transfert dont il attribua la réalisation vraisemblable aux anticorps colostraux. Depuis, de nombreux chercheurs ont également réalisé un transfert passif d'immunité dans d'autres espèces animales. Ainsi MATSON (1964) pour *Babesia rodhaini*, MAHONEY (1967) pour *Babesia bovis* avec du sérum provenant d'animaux infectés pour la première fois.

Caractéristiques de la protection

S'il a été prouvé, par HALL notamment, que les anticorps ne sont pas seulement témoins de l'infection mais qu'ils exercent surtout une action protectrice de l'organisme contre la *Babesia*, il est indéniable, d'après les

travaux de MAHONEY (1967) et ceux de PHILLIPS (1969), que l'on ne peut pas établir de corrélation exacte entre le taux d'anticorps sériques et l'acquisition d'une immunité, étant donné le déclin souvent prématuré de ce taux par rapport au déclin de l'immunité (MAHONEY 1964, FRERICHS et al. 1969).

HALL (1968) montre que la protection chez les bovins est spécifique de souche de parasites tant dans les expériences de transfert passif à partir de sérums d'animaux infectés, que dans la protection du veau par le colostrum maternel.

Des expérimentations semblables dans l'espèce canine ont montré, par la suite, qu'une infection par une souche donnée de *Babesia* sollicite de la même façon chez l'animal une immunité efficace contre une réinfection par une souche homologue de *Babesia* mais pas contre une réinfection par une souche hétérologue.

Dans les expériences de transfert passif d'immunité à *Babesia bovis*, il a été observé qu'une surinfection babésienne du donneur augmente l'activité protectrice du sérum envers le donneur. Ce phénomène s'explique probablement en admettant que les surinfections exposent l'organisme donneur à de nombreux variants antigéniques, sollicitant alors une réponse immunitaire plus complète, gage d'une meilleure protection de l'organisme receveur.

Mécanisme intime de la protection

La protection induite par les anticorps sériques contre l'infection babésienne s'exerce à deux niveaux :

+ Action babésicide :

SIBINOVIC (1969) a observé que les anticorps induits par les antigènes plasmatiques de *Babesia canis* ont une activité parasiticide manifeste : ils provoquent en effet *in vitro* l'agglutination puis la lyse des cellules parasitées et la perte d'infectivité du parasite, c'est-à-dire sa mort en une heure, à 37°C.

Mais il n'est pas encore certain qu'il s'agisse d'une lyse parasitaire spécifique plutôt que de la conséquence de l'effet létal non spécifique de la lyse érythrocytaire : ce problème n'a pas encore été résolu.

Cette activité protectrice des anticorps que SIBINOVIC a observé *in vitro* chez le chien et qui a ensuite été vérifiée *in vivo*, MAHONEY ne l'a pas mise en évidence dans l'espèce bovine infectée par *Babesia bovis* : après la mise en contact *in vitro* de globules rouges infectés et de sérum spécifique, les parasites ne perdent pas leur infectivité pour des veaux splénectomisés : on émet à ce propos l'hypothèse d'une dissociation rapide des complexes Ag-Ac, suite à une faible affinité des anticorps (MAHONEY 1972).

Les anticorps en cause dans ces phénomènes de destruction parasitaire sont des hémagglutinines : ils ont donc, à ce titre, un rôle dans le contrôle de la multiplication parasitaire.

+ Action opsonisante

C'est le second mécanisme connu actuellement par lequel les anticorps sériques protègent l'organisme contre l'infection parasitaire.

On a démontré la présence dans le sérum d'individus parasités d'anticorps opsonisants (=opsonines) : SCHROEDER (1966) a mis le premier en évidence l'activité opsonisante de tels sérums grâce à des réactions *in vitro* et a même pu doser cette activité de la façon suivante : la réaction consiste en la mise en présence du sérum test et d'un exsudat péritonéal obtenu artificiellement sur des souris et contenant moins de 10 hématies pour 100 macrophages : on observe alors l'érythrophagocytose sous microscope à immersion. Le degré d'activité opsonisante se mesure d'une part par le pourcentage de phagocytes contenant un ou plusieurs érythrocytes, à une dilution quelconque, d'autre part par la plus grande dilution de sérum dans laquelle au moins trois pour cent des phagocytes contient des hématies : cette valeur de la dilution représente le titre opsonique du sérum.

En fait, la phagocytose induite par ces opsonines, favorable dans la mesure où elle permet de limiter la multiplication parasitaire, devient rapidement anarchique, s'exerçant aussi bien sur les hématies saines qu'infectées, et participant ainsi vraisemblablement au phénomène d'auto-immunisation que nous développerons dans un chapitre ultérieur.

Conclusion

Il ressort de cette étude qu'il existe bien, en matière de babésiose, une immunité à médiation humorale reposant sur les deux types d'anticorps que l'on vient de mentionner, auxquels il conviendra probablement d'en ajouter d'autres dans les années à venir.

Il convient également de remarquer dès maintenant que l'acquisition de cette immunité à médiation humorale concourt certes à la défense de l'organisme, ce à quoi elle est très favorable, mais entraîne aussi l'apparition de différents phénomènes qui sont défavorables mais que l'on ne peut cependant pas éviter.

Compte rendu des diverses conséquences de l'introduction de l'antigène parasitaire dans l'organisme hôte, il est désormais facile de concevoir toute la difficulté d'utiliser en matière de babésiose le principe de la vaccination de façon à protéger le mieux possible l'animal sans que toutefois les conséquences fâcheuses prennent une trop grande importance.

3. Réponse immunitaire à médiation cellulaire

Longtemps ignorée en ce qui concerne les infections à *Babesia*, son existence est aujourd'hui connue avec certitude ; néanmoins, les données que l'on possède à ce sujet sont encore assez fragmentaires ou du domaine de l'hypothèse et relèvent surtout des connaissances plus avancées que l'on a acquises en matière de paludisme. L'importance relative des phénomènes cellulaires par rapport aux phénomènes humoraux est surtout mal connue.

Il semblerait d'autre part que, dans certaines espèces, l'immunité cellulaire puisse être à la fois spécifique et non spécifique.

Immunité cellulaire spécifique

La preuve de l'existence d'une immunité cellulaire spécifique dans les babésioses a été faite par des expériences de transfert d'immunité réalisées sur le rat : le transfert de cellules spléniques de rat immun à *Babesia rodhaini* a permis de conférer un certain degré d'immunité aux receveurs soumis ensuite à une infection expérimentale par le même parasite. Ce sont là les seules études précises concernant ce problème, aucune autre expérimentation n'ayant été réalisée dans les autres espèces.

Selon NEITZ (1955), l'involution rapide du thymus dans l'espèce canine peu après la naissance expliquerait que les jeunes chiens soient pleinement réceptifs à la babésiose et qu'ils contractent même des formes cliniques graves, contrairement aux autres espèces d'animaux chez lesquels la persistance du thymus pendant quelques mois permet au jeune animal de limiter sa parasitémie, sans que n'apparaissent jamais de troubles cliniques.

En conclusion, le thymus joue un certain rôle dans l'immunité antibabésienne chez tous les jeunes animaux à l'exception du chien : néanmoins, ce rôle reste très modeste comparé à celui de l'immunité non spécifique.

Immunité cellulaire non spécifique

C'est essentiellement par le mécanisme de phagocytose que se manifestent les phénomènes d'immunité cellulaire non spécifique. Nous évoquerons ensuite le rôle de la rate dans la lutte contre l'infection à *Babesia*.

La phagocytose

Les données dont on dispose dans ce domaine sont fragmentaires et peu précises : on a souvent considéré en effet comme sujet d'études des animaux en état d'infection aiguë, enthanasiés ou morts avant que se soit pleinement développée une immunité acquise.

Il semble néanmoins certain, à l'heure actuelle, que la fonction principale du processus de phagocytose soit l'élimination des hématies parasitées de la circulation sanguine, en synergie avec les opsonines. Ce phénomène a été observé en particulier avec *Babesia canis*. Il s'agit donc d'un processus d'érythrophagocytose : les macrophages agiraient sur les hématies après fixation des anticorps sur les antigènes de surface de ces érythrocytes, aboutissant ainsi à la limitation de la multiplication parasitaire, en particulier chez les animaux infectés de façon subclinique.

Cette activité érythrophagocytaire exercée par les macrophages sur les hématies, parasitées ou non, se traduit histologiquement par une hyperplasie des éléments du système réticulo-histiocytaire principalement au niveau de la rate, du foie, de la moëlle osseuse et de la médulla des nœuds lymphatiques, mais aussi dans le sang périphérique : tous ces organes ou régions sont le siège d'une phagocytose intense des érythrocytes, que ces cellules soient parasitées ou non.

Au fur et au mesure de la progression de l'infection, cette activité phagocytaire s'intensifie, surtout dans la rate, le foie et la moëlle osseuse où l'on peut alors trouver des cellules plasmocytaires.

KARPUT (1966) et DORNER (1967) ont même montré qu'il pouvait apparaître dans le sang une lymphocytose.

Les expériences de SCHROEDER (1966) tendent à montrer que cette érythrophagocytose est en corrélation avec la production par l'organisme d'anticorps, plus précisément d'agglutinines, contre les érythrocytes, en prenant comme modèle d'étude des rats infectés par *Babesia rodhaini*. Aucune explication de la signification fonctionnelle de ce phénomène n'a encore été donnée très clairement.

Le processus de phagocytose semble donc jouer un rôle important dans les mécanismes de défense antiparasitaire, avec des conséquences aussi bien favorables que défavorables en ce qui concerne l'évolution de la maladie.

Le rôle de la rate

Il n'a pas encore été défini de façon très précise : il semblerait cependant que cet organe ait un rôle primordial dans l'acquisition de l'immunité à *Babesia* et surtout dans le maintien de cette immunité pendant l'infection subclinique.

Pourtant, chez la souris, la splénectomie n'accroît que très peu la gravité de l'infection à *Babesia rodhaini*. VILLENBERG (1969) démontre de la même façon que l'ablation de la rate dans l'espèce bovine entraîne rarement des rechutes et que la plupart des animaux guérissent tout de même sans cet organe. D'une façon générale, la splénectomie d'animaux en état d'infection subclinique ne provoque que très rarement des rechutes cliniques, constatation qui a amené les auteurs à émettre l'hypothèse de la mise en œuvre après splénectomie, d'un relai par stimulation de sites extraspléniques dont le but serait de maintenir un certain degré d'immunité.

Le rôle de la rate apparaît double :

. Rôle de phagocytose : en début d'infection, c'est dans la rate que l'activité phagocytaire est la plus importante, avant que les autres éléments du système réticulo-histiocytaire ne prennent le relai.

. Rôle d'élaboration rapide d'anticorps vis-à-vis d'antigènes portés par les hématies : c'est ce que PHILIPS a mis en évidence, en 1969, chez le rat avec *Babesia rodhaini*.

En définitive, la rate joue un rôle important dans la défense de l'organisme contre la babésiose ; l'animal semble pourtant supporter assez bien l'ablation de cet organe.

Conclusion

S'ils ne forment pas l'essentiel des mécanismes d'immunité à *Babesia* et s'ils ne sont pas capables, à eux seuls, de protéger l'animal de l'infection babésienne, les processus d'immunité cellulaire ont néanmoins un rôle fondamental à jouer en synergie avec les mécanismes d'immunité humorale.

Tout ce que nous venons d'envisager concerne l'aspect théorique des phénomènes immunologiques inhérents aux babésioses : le but du paragraphe suivant est d'en étudier leurs manifestations cliniques.

C. Conséquences des phénomènes immunitaires

Nous étudierons successivement les conséquences favorables puis défavorables à l'organisme.

1. Conséquences favorables :

Il s'agit pour l'organisme de l'acquisition d'un certain degré de résistance lui permettant de lutter contre l'infestation parasitaire : en ce qui concerne la babésiose, cette immunisation est fonction des différents paramètres que nous avons déjà exposés au paragraphe "réceptivité" : néanmoins, ces défenses naturelles de l'animal ne sont pas toujours suffisantes pour assurer sa guérison même clinique et des rechutes sont toujours à craindre; il s'agit d'une immunité relative que l'animal peut acquérir soit suite à une infection naturelle, soit de façon provoquée par l'injection expérimentale d'une souche de *Babesia* spécifique.

+ Immunité résultant d'une infection naturelle :

Le problème de la nature exacte de l'immunité a été développé dans un chapitre précédent, nous n'y reviendrons donc pas ; il convient cependant d'insister sur le fait que l'immunité à *Babesia* est considérée aujourd'hui comme une immunité durable à l'encontre de souches homologues de parasites, même après disparition de toute trace de parasite de l'organisme.

Rappelons également que l'acquisition d'une immunité solide en matière de babésiose dépend à la fois de l'hôte et du parasite : l'état physiologique de l'animal au moment de l'infection a notamment une influence considérable sur ses moyens de défense : allant dans le sens de cette affirmation, CALLOW et PARKER ont montré, en 1968, qu'un traitement cortisonique chez des animaux infectés entraîne une augmentation du niveau de parasitémie récurrente ; à l'inverse, le traitement par un produit immunostimulant non spécifique tel que le BCG protégeait partiellement des souris infectées par *Babesia microti*. En ce qui concerne les facteurs liés à la souche infectante, il convient de rappeler l'extrême facilité avec laquelle certaines souches de *Babesia* parviennent à déjouer les défenses immunitaires de l'hôte en induisant la production de variants antigéniques contre lesquels l'animal n'est pas immunisé.

+ Immunité induite expérimentalement

Si un animal réceptif à une souche donnée arrive facilement à s'immuniser contre cette souche après une infection survenant dans des conditions naturelles, il est tout à fait satisfaisant d'envisager de façon purement théorique l'immunisation de ce même animal de façon expérimentale. Il est effectivement possible, en pratique, actuellement, de provoquer expérimentalement de deux façons possibles l'immunité antibabésienne chez des animaux réceptifs à cette affection, soit passivement par sérumisation, soit de façon active, il s'agit alors d'une vaccination.

++ Immunisation passive : la sérumisation

Cette méthode consiste en la transmission directe d'anticorps antibabésiens à partir d'un animal donneur immun à un animal encore indemne de babésiose mais néanmoins susceptible de la contracter.

Il s'agit donc nécessairement d'une immunité de courte durée et de faible intensité étant donné d'une part le taux souvent limité d'anticorps fournis, d'autre part l'apparition toujours possible de variants antigéniques contre lesquels les anticorps du donneur se montrent inefficaces : la sérumisation confère au receveur une immunité dirigée exclusivement à l'encontre de souches homologues à la souche infectante du donneur. Il s'agit donc d'un donneur ayant subi plusieurs rechutes, par variation antigénique, le spectre d'activité immunitaire conféré à l'organisme receveur est alors plus étendu.

++ Immunisation active : la vaccination

Cette méthode, d'usage beaucoup plus intéressant, a d'abord été employée dans l'espèce bovine selon différentes techniques qui feront l'objet du prochain chapitre : en ce qui concerne l'espèce canine, le problème économique lié à cette affection étant moins grave que chez les animaux de rendement, ce n'est que depuis quelques années que l'on s'intéresse à la vaccination du chien.

Le but de cette méthode est de solliciter activement l'acquisition de la résistance à la babésiose chez un animal en réponse à l'introduction dans son organisme de structures à propriétés antigéniques de nature variable : d'une façon générale quelle que soit l'espèce, la vaccination peut se faire :

- soit au moyen de parasites vivants dont le pouvoir pathogène est atténué selon différents procédés exposés ultérieurement
- soit au moyen de parasites tués
- soit au moyen d'antigènes plasmatiques.

En fait, les méthodes de vaccination du chien sont le résultat de l'extrapolation à cette espèce des méthodes de vaccination dans l'espèce bovine, c'est pourquoi il nous a semblé utile de consacrer un chapitre particulier aux méthodes d'immunisation déjà en cours chez les bovins avant d'aborder la deuxième partie de ce travail consacrée aux essais de chimio-immunisation et d'immunisation passive dans l'espèce canine.

2. Conséquences défavorables :

Outre un certain degré de protection contre l'infection babésienne qu'elle confère à l'organisme hôte, l'introduction de la *Babesia* dans le torrent circulatoire entraîne également des manifestations d'ordre immunitaire néfastes au rétablissement de l'animal dans la mesure où ces lésions d'origine immunologique viennent en fait s'ajouter aux lésions occasionnées par le parasite lui-même : nous abordons, avec ces observations, le domaine de l'immunopathologie, domaine d'exploration encore récente regroupant toute la pathologie induite par l'acquisition de l'immunité.

Des études récentes ont d'ailleurs montré que différentes manifestations observées lors de cas de babésiose semblent devoir se rattacher à des phénomènes d'auto-immunisation.

+ Définition et découverte du phénomène

Selon LAPRAS et MONIER , "l'auto-immunisation caractérise la rupture de l'état de tolérance de l'organisme vis-à-vis de ses propres constituants se comportant comme auto-Antigènes (Auto-Ag)".

L'auto-immunisation se traduit par l'apparition d'Auto-Ac circulants d'une part, et par la présence de lymphocytes sensibilisés vis-à-vis des structures Auto-Ag d'autre part.

Le processus d'auto-immunisation constitue le plus souvent un épiphénomène immunologique consécutif à une affection primitive et n'est pas pathogène à lui seul, de sorte que l'on parle volontiers de maladie "avec auto-immunisation" plutôt que "par auto-immunisation".

La découverte des phénomènes auto-immunitaires inhérents aux babésioses est basée sur des faits d'observation du déroulement clinique de la maladie dont le principal est que le processus anémique propre à toute babésiose est souvent beaucoup plus important que ce à quoi l'on s'attendrait compte tenu du taux de parasitémie. Il faut donc admettre, en plus de l'action pathogène propre du parasite sur les hématies, l'existence d'un facteur quelconque induit par la présence du parasite dans le torrent circulatoire et nocif pour les érythrocytes encore intacts. Plus tard, d'autres manifestations d'auto-immunisation telles que l'hémagglutination intra-capillaire par exemple sont venues confirmer cette suspicion.

En fait, bien que l'éventualité du développement d'une anémie hémolytique auto-immune suite à une babésiose chez le chien ait été évoquée à diverses reprises sur la base d'arguments cliniques et biologiques (JAIN, 1975 ; BUNDZA, 1976), cette hypothèse n'a pu être confirmée de façon définitive et, selon LAPRAS et MONNIER, l'auto-immunisation secondaire ne semble ne représenter, dans l'état actuel de nos connaissances, qu'un phénomène exceptionnel.

Quelle que soit sa part d'intervention réelle dans le développement du processus anémique, l'auto-immunisation est un épiphénomène immunologique dont les effets néfastes, plus ou moins importants, viennent compliquer l'évolution clinique normale de la maladie.

+ Manifestations d'auto-immunité

Différentes constatations cliniques permettent d'envisager l'existence de phénomènes auto-immunitaires.

++ L'anémie

Dans la babésiose canine, il est assez fréquent d'observer une anémie qui, outre le fait qu'elle est disproportionnée par rapport à la parasitémie, se prolonge souvent bien après la disparition de toute *Babesia* dans le sang, pour autant que le simple contrôle microscopique suffise à affirmer, en toute certitude, qu'il ne reste plus

aucun parasite dans le torrent circulatoire, ce qui reste à prouver. Les expériences de MAIGRAITH (1957) montrent tout de même que la destruction érythrocytaire concerne aussi bien les hématies saines que les hématies parasitées.

En ce qui concerne la babésiose bovine à *Babesia bovis* et à *Babesia bigemina*, il semble que l'anémie évolue généralement parallèlement à la parasitémie.

Face à ces constatations de destruction de globules rouges intacts, il a été émis l'hypothèse de l'existence de substances induites par l'introduction du parasite dans l'organisme : selon WEINMAN et RISTIC, des facteurs immunogènes constitués en trois groupes expliqueraient la prolongation du processus anémique en phase post-parasitaire :

- des peptides biologiquement actifs : ils apparaissent très tôt dans le sang de l'hôte, bien avant que ne soient apparus des anticorps spécifiques contre le parasite et semblent incriminés dans les processus pathologiques associés à la babésiose. GOODWIN et RICHARDS en ont isolé du sang et de l'urine de chiens infectés.

- Des antigènes plasmatiques : ils agiraient, d'après DIXON, en se combinant aux anticorps et en adhérant même aux érythrocytes non parasités : le procédé d'immunofluorescence a mis en évidence ce phénomène au niveau des surfaces membranaires. Les antigènes plasmatiques auraient ainsi un pouvoir hémolytique selon SIBINOVIC (1969) : en effet, modifiant la configuration antigénique des hématies, le complexe Ag-Ac provoquerait directement la lyse érythrocytaire ou alors de façon indirecte en exacerbant la phagocytose des hématies.

Il s'agit donc bien d'un phénomène d'auto-immunité

- des anticorps hémagglutinants et opsonisants : ils ont été mis en évidence, dans la babésiose du rat, à la surface des hématies ; bien que de tels anticorps n'aient pas encore été isolés chez le chien, il n'est pas interdit néanmoins d'en suspecter la présence.

Tous ces facteurs auraient comme effet :

- soit de réaliser directement l'héماغglutination permettant alors la phagocytose des débris cellulaires ;
- soit d'adhérer à la surface de n'importe quel érythrocyte le rendant alors étranger à l'organisme, définition même du phénomène d'auto-immunisation.

++ La splénomégalie

Elle fait partie de la symptomatologie classique des babésioses : elle est alors le siège d'une augmentation considérable de la production de globulines, dont certaines seraient hémolysantes. De plus, le ralentissement de la circulation interne dans la rate augmente la phagocytose des hématies, parasitées ou non, qui sont sensibilisées par les opsonines.

La splénomégalie constitue, selon ZUCKERMAN, une manifestation d'auto-immunisation.

++ L'héماغglutination

On a pu mettre récemment en évidence des auto-héماغglutinines dans le sang d'animaux infectés de babésiose : elles réagissent avec des auto-antigènes situés à la surface des érythrocytes, ce qui en favorise la phagocytose, principalement au niveau de la rate et du Système Réticulo-Histiocytaire. Ces phénomènes d'héماغglutination sont néanmoins observables à tous les niveaux de l'organisme, ce qui explique d'ailleurs le polymorphisme du tableau clinique des babésioses : dans le foie par exemple, l'accumulation d'hématies agglutinées provoque l'obstruction des capillaires sinusoides qui a pour conséquences l'anoxie puis la nécrose du parenchyme hépatique.

L'héماغglutination intra-vasculaire du rein, en corrélation avec la précipitation d'immuns-complexes sur les parois vasculaires, autre manifestation d'auto-immunisation qu'ITURRI a observées chez le rat, en 1969, serait à l'origine de lésions inflammatoires glomérulaires, donc, par la suite, d'insuffisance rénale, presque de règle en matière de babésiose. Bien que cela n'ait pas été démontré chez le chien, on peut supposer que l'insuffisance rénale fréquemment constatée a la même étiologie.

3. Conclusion

De cette étude concernant les phénomènes immunitaires consécutifs à une infection babésienne, nous retiendrons le fait essentiel, à savoir que l'acquisition par l'animal d'une immunité protectrice, s'accompagne presque systématiquement de troubles organiques liés à des phénomènes d'auto-immunité qui ne peuvent qu'aggraver l'état général, et cela d'autant plus que c'est surtout à la fin de l'accès parasitaire que se manifestent les conséquences fâcheuses de l'immunité.

Il apparaît donc difficile, *a priori*, de dissocier ces deux aspects favorables et défavorables des phénomènes immunitaires, et le but recherché dans les essais d'immunisation expérimentale sera d'essayer de limiter la réponse immunitaire de façon à engendrer une protection maximale sans toutefois provoquer trop d'effets indésirables liés aux phénomènes d'auto-immunisation.

D. Méthodes d'immunisation chez les Bovins

L'immunisation des Bovins contre la babésiose est une pratique déjà ancienne puisque POUND (1897) vaccine pour la première fois des animaux en Australie ; deux ans plus tard (1899), CONNAWAY et FRANCIS pratiquent, eux aussi, la vaccination de troupeaux de Bovins aux Etats-Unis, conférant ainsi aux animaux une certaine protection contre les babésioses endémiques de l'époque.

Il convient de signaler à ce propos les travaux de SERGENT et DONATIEN, concernant l'immunisation des Bovins contre la babésiose : se basant sur le fait que les animaux en phase d'infection métacritique jouissent d'une certaine immunité, ces auteurs utilisaient, comme agent vaccinant, des *Babesia* d'infection latente entretenues par passage de veau à veau, le sang de ces animaux servant précisément de vaccin.

Depuis, de nombreuses méthodes ont été découvertes : les unes utilisent des parasites vivants modifiés, d'autres des parasites tués, d'autres enfin des antigènes de *Babesia*;

pour des raisons que nous évoquerons plus loin, les méthodes de chimio-immunisation semblent représenter, à l'heure actuelle, des méthodes d'avenir, compte tenu de la relative facilité de mise en œuvre de leurs techniques et des résultats déjà obtenus.

1. Immunisation au moyen de parasites vivants modifiés:

Les *Babesia* peuvent être modifiées selon différents traitements.

+ Par passages successifs directs sur veaux splénectomisés

Cette méthode a été mise au point par CALLOW et MELLOR (1966) pour protéger les animaux contre la babésiose à *Babesia bovis* qui sévissait alors en Australie.

Les passages successifs sur veaux splénectomisés ont pour conséquence un affaiblissement notable de la virulence des parasites tout en permettant un développement important du nombre de *Babesia* : cette technique permet donc d'utiliser une plus grande quantité de parasites par dose : une dose vaccinnante de 10^7 parasites provoque la réaction de l'hôte 8 à 9 jours après l'inoculation.

Le traitement immuno-dépresseur à base de cortico-stéroïdes que CALLOW et PARKER avaient mis au point sur les veaux donneurs de façon à accroître le nombre de parasites fut supprimé lorsque l'on démontra, en 1976, qu'il provoquait parfois la mort subite des animaux du fait du phénomène de coagulation intravasculaire disséminée.

Cette méthode permet l'immunisation de Bovins de 12 à 13 mois, une deuxième injection étant réalisée 6 mois plus tard par une souche différente de *Babesia* de façon à accroître le spectre de protection du vaccin.

Elle donne de très bons résultats, employée en région d'instabilité endémique, ou sur des animaux immunologiquement vierges importés dans une région de stabilité endémique.

Néanmoins, cette méthode présente le risque de transmettre, lors de la transfusion, d'autres maladies bactériennes, virales ou parasitaires. De plus, des accidents

hémolytiques sont toujours à craindre lors de transfusions répétées, par incompatibilité sanguine.

+ Par irradiation aux rayons X

Les rayons X se sont révélés avoir une action inhibitrice sur la croissance et la multiplication des *Babesia* : HALBERSTAEDTER montre le premier, en 1938, que des doses comprises entre 20 et 100 krad appliquées à ces parasites empêchent toute multiplication tout en les laissant métaboliquement actifs, ce qui explique le développement possible d'une immunité anti-babésienne. MAHONEY (1973) réalise, par ce moyen, l'immunisation de Bovins contre une souche de *Babesia bovis*, de façon partielle : cependant, les résultats obtenus chez les Bovins sont assez décevants ; de plus, le grand nombre de parasites qu'il faut irradier pour obtenir un vaccin suffisamment efficace constitue un obstacle non négligeable à l'application de cette méthode qui n'est plus très employée à l'heure actuelle.

2. Immunisation au moyen de parasites tués :

Les *Babesia* peuvent être tuées par des procédés chimiques ou physiques. Cette méthode présente l'avantage de ne pas créer de sources de parasites, contrairement aux précédentes.

Les résultats obtenus en traitant les parasites par le formol ou par l'association formol + propiolactone + adjuvant de Freund, ne sont pas satisfaisants. En revanche, une protection correcte est conférée aux animaux en tuant les *Babesia* par ultrapression puis en les soumettant alternativement à des phénomènes de congélation - décongélation (MAHONEY, 1967).

Ce procédé ne permet pas de conférer une immunité contre des souches hétérologues mais il provoque l'immunisation de l'animal contre une souche homologue, avec retard d'apparition de la parasitémie, arrêt de la multiplication des *Babesia* au taux de 10^4 parasites/mm³ de

sang et guérison en 15 jours.

Il ne semble pas, néanmoins, que cette méthode soit une méthode d'avenir : d'ailleurs, ce vaccin n'est pas commercialisé.

En dehors de la classification des procédés de vaccination en fonction du caractère vivant ou mort du parasite, RISTIC a récemment démontré le pouvoir immunigène des antigènes de surface hydrosolubles de mérozoïtes de *B. canis* : au moment de la pénétration dans l'hématie, l'antigène de surface assure le contact avec le globule rouge mais cet antigène de surface ne pénètre pas dans l'hématie; il est rejeté par la *Babesia* et s'accumule dans le sang ou le milieu de culture selon le cas.

Cet antigène s'est avéré immunologiquement actif : de plus, c'est un antigène très stable de PM voisin de 65 000.

Après traitement de cet antigène par la saponine et administration à l'animal, RISTIC observe une élévation du taux d'anticorps dès le 10^e- 20^e jour : une deuxième injection vers le 30^e jour provoque une nouvelle augmentation des titres sériques aux environs du 40^e jour.

3. Orientation actuelle : la chimio-immunisation

En fait, l'obstacle majeur, en matière de vaccination contre les babésioses, est la difficulté d'obtenir l'antigène parasitaire en quantité suffisante, la culture des *Babesia* s'avérant particulièrement difficile et n'ayant pas encore été mise au point à l'échelon industriel. Pour cette raison, on cherche à pallier cette carence actuellement en s'orientant vers des méthodes de chimio-immunisation, méthodes qui consistent à laisser se développer l'immunité chez des animaux exposés à une infection babésienne naturelle ou expérimentale sous le couvert néanmoins d'une protection chimique, de façon à éviter l'installation d'une maladie trop sévère.

CALLOW et Mc GREGOR mettent en évidence, en 1970, les propriétés prophylactiques d'un dérivé de l'imidazole, "l'Imidocarb", dont ROY-SMITH montre l'efficacité dans des conditions naturelles, en 1971, date de son autorisation de mise sur le marché.

Les résultats très encourageants obtenus par l'utilisation de ce produit dans l'espèce bovine nous ont incités à l'expérimenter dans l'espèce canine, ce qui constituera l'un des buts de la seconde partie de ce travail consacré à nos essais personnels d'immunisation contre la babésiose canine.

IV - C O N C L U S I O N S

Au terme de cette première partie, les babésioses se révèlent être, sans distinction d'espèce, des maladies d'un abord complexe à divers titres, dont l'essentiel des caractères nous est néanmoins connu à l'heure actuelle :

- En dépit du changement récent de sa dénomination générique, le parasite a conservé sa place bien définie dans la systématique parasitaire ;
- On connaît également le polymorphisme clinique sous lequel la maladie peut apparaître ; en conséquence, un diagnostic de certitude a nécessité la mise au point de techniques objectives de mise en évidence des *Babesia* ;
- Des moyens thérapeutiques très efficaces permettent d'enrayer les babésioses cliniquement déclarées ;
- Mais, pour des raisons à la fois économiques et médicales, on a tout de même cherché à mettre au point, surtout dans l'espèce Bovine, des moyens de lutte contre ce fléau permettant de limiter les pertes animales dans les régions d'endémie babésienne.

En fait, c'est principalement vers le domaine de l'immunologie que se sont orientées les recherches dans ces dernières décennies, mettant au jour la configuration antigénique du parasite. La méthode E.L.I.S.A., appliquée à la babésiose, permet aujourd'hui un dépistage sérologique tardif des anticorps. Enfin, la découverte des phénomènes d'auto-immunisation a permis d'expliquer un certain nombre de symptômes ou lésions jusqu'alors inexpliqués.

Devant les inconnues qui subsistent en matière de prophylaxie de la babésiose canine, par opposition aux méthodes d'immunisation concernant l'espèce bovine, dont les essais abondent dans la littérature, il nous a paru intéressant d'entreprendre une expérimentation concernant d'une part la chimio-immunisation du chien, d'autre part l'immunisation passive de l'animal contre la babésiose. Ce sera l'objet de la deuxième partie de notre thèse.

- D E U X I E M E P A R T I E -

ESSAIS COMPARATIFS DE LA CHIMIO-IMMUNISATION ET
DE L'IMMUNISATION PASSIVE DANS LA PROPHYLAXIE DE
LA BABESIOSE CANINE

I - I N T R O D U C T I O N

Nous nous proposons, dans cette seconde partie, exclusivement consacrée à notre travail personnel d'expérimentation, d'essayer de mettre au point des moyens d'immunisation efficaces contre la babésiose canine.

L'importance capitale sur le plan à la fois économique et médical de cette affection, son diagnostic parfois difficile, son traitement toujours mal supporté par l'animal, sont autant de raisons qui nous ont suggéré la mise en œuvre d'une telle étude.

Employer le mot "vaccination" pourrait faire penser à la recherche d'un vaccin et serait, en ce sens, assez prétentieux et optimiste de notre part quand on sait ce que sous-entend une telle entreprise au niveau matériel et investigations. Pour cette raison, nous préférons au mot "vaccin" l'expression "moyens prophylactiques médicaux" de sens beaucoup moins restrictif.

Ces essais d'immunisation en matière de babésiose canine s'inspirent évidemment largement des travaux expérimentaux déjà très nombreux concernant les babésioses bovines. Chez le chien, seuls des moyens de prophylaxie sanitaire permettent, à l'heure actuelle, de limiter les risques de contracter la maladie, et cela encore de façon très aléatoire. Ainsi, la mise au point de moyens prophylactiques médicaux, dont l'emploi systématique sur tous les chiens nous paraît excessif, semble au contraire d'une indication majeure sur des animaux faisant de la babésiose une affection répétitive.

Ces essais d'immunisation du chien contre la babésiose devraient donc intéresser à la fois éleveurs et propriétaires pour qui cette maladie reste parfois un sujet préoccupant et vétérinaires, qui aimeraient pouvoir proposer, dans certains cas, un moyen de protection plus efficace que les simples mesures de prophylaxie sanitaire.

La faculté qu'ont les chiens de développer une immunité acquise post-infectieuse dans des conditions naturelles nous a incité à essayer de provoquer une immunisation expérimentale dans cette espèce. Nous avons cherché, dans ce travail, à comparer les résultats obtenus selon une méthode d'immunisation active, la chimio-immunisation, avec ceux obtenus en utilisant une méthode d'immunisation passive ; la chimio-immunisation a été réalisée au moyen d'un dérivé de l'imidazole, l'Imidocarb, dont le professeur J. EUZEBY et ses collaborateurs ont montré récemment l'efficacité sur le terrain dans la prévention de la babésiose bovine. Quant à nos essais d'immunisation passive, ils ont consisté en un transfert d'immunité par inoculation de différents liquides biologiques provenant d'animaux infectés à des animaux neufs n'ayant jamais été en contact avec la *Babesia* mais néanmoins parfaitement sensibles à cette affection, dont on a ensuite éprouvé la résistance au moyen d'une infection expérimentale.

Un certain nombre de paramètres nous permettront de suivre, dans cette seconde partie, l'évolution de nos animaux d'expérience au cours du temps : il s'agit notamment de leur état clinique, de leur température rectale, de leur taux de parasitémie, de leur formule sanguine et enfin de différentes sérologies anti-babésiennes.

Les résultats que nous avons pu obtenir à l'issue de ces essais expérimentaux sont d'ailleurs le fruit d'une étroite collaboration entre l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon et l'IFFA - Mérieux qui, outre la fourniture des moyens matériels (chiens et souches de *Babesia*) nécessaires à la réalisation de ce travail, a réalisé également toutes les analyses sérologiques de notre expérimentation.

Mais avant d'aborder l'exposition proprement dite de nos essais d'immunisation, il convient de consacrer un paragraphe aux procédés de culture *in vitro* de la *Babesia* récemment mis au point par notre confère le Dr MOREAU et prometteurs, dans un proche avenir peut-être, de progrès considérables en ce qui concerne les possibilités d'immunisation des animaux contre les babésioses.

II - P R O C E D E S D E C U L T U R E I N V I T R O D E B A B E S I A C A N I S .

Longtemps considérée comme impossible, la multiplication *in vitro* de la *Babesia* est obtenue depuis quelques années : l'impossibilité pour le parasite de se multiplier hors de l'organisme animal constituait certainement l'obstacle majeur à la mise en place d'une prévention immunologique de cette affection.

Les travaux concernant la culture *in vitro* de la *Babesia* ont été largement inspirés de travaux plus anciens (1976) sur la culture *in vitro* du *Plasmodium* (*P. falciparum*) réalisés par TRAGER et collaborateurs. En ce qui concerne les babésioses, ERP et collaborateurs ont récemment mis au point sur un modèle voisin du précédent une méthode de culture *in vitro* de *Babesia bovis*.

Depuis quelques années, le Dr MOREAU et son équipe ont envisagé différentes techniques de culture *in vitro* de *Babesia canis* à l'IFFA-Mérieux, ce qui leur a permis d'une part d'obtenir des parasites donc des antigènes babésiens en quantité suffisante pour pouvoir réaliser dans de bonnes conditions des sérologies anti-babésiennes, d'autre part d'effectuer une étude ultra-structurale plus approfondie de *Babesia canis* et dont les résultats concordent avec ceux obtenus par BUTTNER selon des méthodes de prélèvements *in vivo* des hématies infectées.

Avant d'aborder la description de la méthode que le Dr MOREAU a mise au point et qu'il a bien voulu nous révéler, voyons d'abord quels en sont le but et les avantages.

A - But et avantages

1 - But

Il s'agit d'obtenir des parasites en quantité importante et d'une façon facilement contrôlable puisque les différents paramètres de la technique de culture sont standardisés contrairement à la multiplication *in vivo* de la *Babesia*.

On dispose ainsi d'une quantité suffisante d'antigène parasitaire dont on peut se servir soit lors de la réalisation de sérologies (sérodiagnostic ou cinétique d'anticorps) soit éventuellement, dans les années à venir, pour mettre au point un vaccin anti-babésien. Mais le but que le Dr MOREAU et collaborateurs s'étaient fixé et qu'ils ont d'ailleurs atteint était de disposer d'un antigène babésien suffisamment fiable et fidèle pour la mise en place de réactions sérologiques.

2 - Avantages

La méthode de culture *in vitro* de *Babesia canis* présente des avantages considérables par rapport à l'entretien *in vivo* :

- une économie importante sur le plan financier dans la mesure où l'on utilise un matériel d'expérimentation inerte et non un matériel vivant qui implique des frais d'achat, d'entretien et de gardiennage.
- une manipulation plus facile.
- une croissance plus rapide qu'*in vivo* étant donné que l'on a la possibilité de faire varier à volonté les facteurs de croissance.
- une possibilité de contrôle plus facile du déroulement des opérations.
- une production d'antigènes parasitaires continue et plus importante.

L'étude ultrastructurale de la *Babesia* réalisée grâce à des prélèvements effectués pendant la culture a montré que le parasite n'est pas modifié par son passage *in vitro*.

Malgré ces nombreux avantages, il subsiste encore actuellement l'inconvénient suivant, à savoir qu'il est impossible, dans l'état actuel des choses, de faire démarrer une culture *in vitro* à partir d'une souche congelée, celle-ci devant d'abord subir obligatoirement un passage sur chien ; ce

phénomène reste encore sans explication aujourd'hui.

La culture *in vitro* présente également l'inconvénient de nécessiter des repiquages fréquents, contrairement à l'entretien *in vivo* où le même chien assure l'ensemble de la multiplication parasitaire.

B - Matériel

- + les animaux : comme nous venons de le voir, ils sont indispensables au démarrage de la culture *in vitro*.
L'IFFA-Mérieux utilise des chiens de race Beagle, de 7 à 9 mois, n'ayant jamais eu de contact préalable avec *B. canis* puisqu' élevés dans un élevage protégé de l'Institut Mérieux, donc pleinement réceptifs et sensibles à la babésiose. Néanmoins, dans le but d'accroître l'impact du parasite sur leur organisme, les animaux font l'objet soit d'une splénectomie soit d'un traitement immuno-dépresseur par l'acétate de prednisolone administré à la dose de 75 mg par jour pendant les trois jours précédant l'infection expérimentale.
- + la souche infectante : c'est une souche de *Babesia canis* isolée par le Dr Y. ROBIN de Villeurbanne sur un chien et qui, bien qu'ayant subi 11 passages sur chiens splénectomisés, a conservé toute sa virulence. Cette souche se conserve à l'état congelé dans du DMSO.*
- + le matériel de culture : la culture peut être réalisée :
 - soit dans des boîtes de Pétri de 50 mm de diamètre
 - soit dans un flacon pour culture cellulaire en suspension de 200 ml.
- + le milieu de culture : il s'agit, comme pour la culture *in vitro* de *Plasmodium falciparum*, de milieu RPMI 1640** mais tamponné cette fois

* DMSO : diméthyl sulfoxyde.

** RPMI : Rockwell Park Medical Institute.

à pH 7,2 avec 40 mM d'HEPES (N-2-Hydroxyéthylpiperazine-N'-2-éthane-sulfonic acid). Lors de la mise en suspension des hématies dans le milieu RPMI 1640, du sérum de chien (groupe A -) est alors rajouté à raison de 15 %.

C - Procédé de culture

Deux méthodes ont été successivement envisagées par Y. MOREAU et collaborateurs :

- une méthode en boîte de Pétri entretenue dans une cloche à dessiccation.
- une méthode en suspension, sous agitation en atmosphère de CO₂.

La technique que nous allons maintenant décrire correspond dans les détails à celle que MOREAU et SOULA ont mise au point et exposée dernièrement (Lyon, 1979).

L'infection expérimentale des chiens a lieu par voie intra-veineuse au moyen de la souche infectante (environ 10⁵ *Babesia*/mm³); 4 à 5 jours plus tard, la parasitémie avoisine 0,5 %. Après récolte du sang sur héparine puis centrifugation à 400 g pendant 10 minutes, le plasma et le "buffy-coat" sont alors éliminés et les hématies subissent deux lavages successifs dans le milieu décrit dans le paragraphe précédent avant d'être enfin ramenées à une concentration finale de 8% dans ce même milieu RPMI 1640 contenant 15% de sérum de chien (groupe A-).

On répartit alors la suspension :

- soit dans des boîtes de Pétri à raison de 4 ml par boîte.
- soit dans un flacon pour culture cellulaire à raison de 100 ml.

Les boîtes de Pétri sont ensuite déposées soit dans une étuve à CO₂ dont l'atmosphère est saturée en eau, soit dans une cloche à dessiccation dont SCHEIBEL et collaborateurs ont défini la composition idéale :

- CO₂ 1,1 à 3,3%
- O₂ 14,5 à 17,8%

La multiplication parasitaire est suivie tout au long de la culture au moyen de prélèvements réalisés à intervalles réguliers et grâce à la technique de la goutte épaisse décrite par BISHOP (1973) associée à une numération globale.

En ce qui concerne la nature des hématies utilisées pour compléter les cultures, MOREAU et SOULA (1979) ont démontré que les hématies de chien de groupe sanguin A- permettaient une infestation parasitaire meilleure que celles de chien de groupe A+.

Les différents essais réalisés à l'IFFA ont amené ces mêmes auteurs à utiliser pour la culture *in vitro* des hématies récoltées sur rate de chien sain après splénectomie.

D - Résultats et discussion

Les expériences réalisées dans ces conditions ont montré qu'il est possible d'infecter des érythrocytes neufs à l'aide soit de mérozoïtes libres isolés par sédimentation sur une solution à 3% de gélatine soit d'hématies parasitées, les deux techniques aboutissant finalement au même taux de multiplication.

Le taux de multiplication s'avère être meilleur si l'on utilise des hématies récoltées dans la rate d'un chien immédiatement après splénectomie de préférence à des hématies prélevées dans le sang périphérique.

Au cours des différents essais, des améliorations ont été apportées à la méthode, augmentant ainsi les performances de la culture *in vitro* de *B. canis* :

- l'inoculum, c'est-à-dire le sang prélevé sur l'animal infecté expérimentalement, est plus riche en parasites donc meilleur sur un chien splénectomisé que sur un chien immunodéprimé, ce qui permet d'obtenir des parasitémies plus élevées en fin de culture.
- la technique de culture en boîte de Pétri, ne permettant d'obtenir finalement qu'une quantité limitée de *Babesia* a été remplacée par une technique de culture en suspension dynamique et non plus statique, de volume beaucoup plus important.

En conclusion, cette étude entreprise par MOREAU et SOULA concernant la culture *in vitro* de *Babesia canis* nous paraît être d'un intérêt fondamental en vue de son application pratique, dans la mesure où la mise au point d'une telle méthode de culture permet désormais de disposer d'un matériel parasitaire à volonté et d'envisager ainsi une étude immunologique plus fine de la babésiose canine (structure antigénique, équipement enzymatique notamment), qui pourrait éventuellement déboucher prochainement sur la mise au point d'un vaccin contre la babésiose canine, au vrai sens du terme.

L'étude expérimentale que nous allons exposer ici se compose en fait de deux expérimentations distinctes, d'une part dans le temps, puisque réalisées respectivement en 1978 et 1979, d'autre part en ce qui concerne le but recherché.

1° partie : essai de chimio-immunisation par l'Imido-carb.

2° partie : essai d'immunisation passive.

III. PREMIERE EXPERIMENTATION - ANNEE 1978 ESSAI D'IMMUNISATION ACTIVE.

A - Protocole expérimental

1 - Principe

Cette expérimentation a pour but d'essayer de susciter l'immunisation de chiens contre la babésiose canine en pratiquant sur ces animaux une infection expérimentale à *B. canis* sous le couvert d'un médicament chimio-préventif, l'Imidocarb en l'occurrence, en faisant varier l'intervalle de temps séparant l'inoculation de la souche infectante et l'administration du produit selon les chiens. Ce travail nous permettra d'observer la résultante de ces deux actions conjuguées, et de conclure ainsi dans quelle mesure l'administration concomittente à une infection à *B. canis* d'un traitement chimio-préventif permet d'atténuer la gravité de cette primo-infection tout en laissant se développer l'immunité antibabésienne.

Nous utilisons là le fait que l'Imidocarb est un médicament très actif contre la babésiose mais à élimination lente, de sorte qu'il permet d'enrayer l'évolution du processus morbide sans couper toutefois la possibilité pour l'hôte de développer une certaine immunité. L'utilisation de ce produit dans la technique de chimio-immunisation contre la babésiose bovine, préalablement à son essai d'utilisation dans l'espèce canine, avait donné, dans des conditions similaires de protocoles, des résultats tout à fait encourageants.

Nous éprouverons, dans un second temps, l'immunité acquise par ces chiens lors de la primo-infection en pratiquant sur ces mêmes animaux une réinfection quelques mois plus tard au moyen de la même souche de *Babesia*, étant bien entendu que, d'après ce que nous venons de voir dans la première partie de ce travail concernant les phénomènes immunitaires inhérents à la babésiose canine, nous ne cherchons à mettre en évidence ici qu'une protection contre une souche homologue de *Babesia*.

Le fait de faire varier dans le protocole expérimental l'intervalle de temps séparant l'infection et le traitement par l'Imidocarb a pour but de déterminer le protocole vaccinal optimal, c'est-à-dire celui qui entraîne les symptômes de babésiose les plus bénins suite à la primo-infection, mais assurant néanmoins une protection efficace lors de la réinfection.

2 - Moyens d'appréciation de l'évolution de l'expérimentation

Différents paramètres vont nous permettre d'une part d'établir la surveillance clinique des animaux en cours d'expérimentation, d'autre part d'avoir en même temps une approche valable de leur prise d'immunité.

Nous avons classé ces moyens d'appréciation en fonction de leur caractère qualitatif ou quantitatif.

* Moyens d'analyse qualitative : ils consistent :

- en premier lieu en l'observation quotidienne de l'état général des chiens (vigueur, comportement, aspect général, appétit essentiellement).
- en deuxième lieu en l'appréciation de la couleur des urines et, éventuellement, de la couleur et de la consistance des selles.
- enfin, en l'appréciation du degré d'anémie des muqueuses visibles (buccale, oculaire, vulvaire).

* Moyens d'analyse quantitative :

- des prises de température rectale quotidiennes sont effectuées de façon à établir les courbes de température des animaux pendant le mois suivant l'infection. Ce laps de temps nous a paru très suffisant pour permettre de déceler les différentes réactions des chiens vis-à-vis du traitement qui leur est infligé.
- des examens hématologiques sont réalisés au moyen de la technique de l'étalement sanguin de sang capillaire prélevé à l'oreille et permettent ainsi une appréciation quantitative périodique du taux d'infection en même temps qu'une numération - formule dont nous retiendrons essentiellement l'évolution au cours de l'expérimentation des taux de lymphocytes et de monocytes.

Les étalements sanguins sont colorés au moyen de la méthode de Stévenol pour apprécier le taux de parasitémie mais, en ce qui concerne les numérations - formules, seule la méthode de May-Grünwald-Giemsa permet de différencier facilement les différents types de leucocytes.

- des prises de sang à la veine radiale sont effectuées sur les chiens périodiquement (environ 1 par semaine) en vue de la réalisation ultérieure, à l'I.F.F.A., d'examens sérologiques concernant la fixation du complément et la réaction E.L.I.S.A.

Ces prélèvements sanguins sont donc réalisés en l'absence de substance anticoagulante de façon à obtenir le sérum ; cependant, des prélèvements sur tube hépariné sont également réalisés en vue de recueillir le plasma des animaux dont nous nous servons, entre autres substances, dans la deuxième expérimentation, pour essayer de protéger de nouveaux chiens contre une infection expérimentale.

3 - Matériel

a - Animaux

Nous utilisons des chiens en provenance de l'élevage de l'I.F.F.A. donc en parfait état de santé.

Les animaux retenus pour l'expérimentation doivent remplir un certain nombre de conditions :

* Critères de sélection :

- ils doivent constituer un lot homogène à l'intérieur de chaque expérimentation en ce qui concerne notamment l'âge, la race, la résistance physique de façon à réduire aux seules variations individuelles les erreurs possibles et à éviter les interférences avec d'autres maladies qui perturberaient l'évolution normale de l'expérimentation et seraient alors sources de confusion.

- ils doivent être neufs, c'est-à-dire n'avoir jamais contracté auparavant la babésiose ou même seulement été en contact avec des antigènes babésiens. Le jeune âge des chiens et leur provenance de l'élevage clos de l'I.F.F.A. constituent déjà un gage de négativité quant à une éventuelle contamination antérieure ; la réalisation d'étalements sanguins et d'examen sérologiques en début d'expérimentation vient confirmer cette hypothèse.

Nous utilisons ici quatre chiens mâles, croisés bauceron, d'environ huit mois dont les poids s'étagent de la façon suivante : 14 kg, 18 kg, 18 kg et 20 kg. Les différences observées au niveau de la répartition de ces poids s'expliquent compte tenu du fait qu'il s'agit en fait de chiens issus de croisements divers : ces animaux constituent néanmoins un lot relativement homogène en ce qui concerne l'âge et l'état de santé.

b - Souche de Babesia

La souche infectante nous est également fournie par l'I.F.F.A. le jour même de l'expérimentation et parvient à l'Ecole Vétérinaire de Lyon en emballage isotherme sous forme d'une ampoule scellée contenant 1 ml de sang de chien splénectomisé infecté de babésiose, prélevé le matin même alors que la parasitémie est maximale, immédiatement avant la mort naturelle du chien, ce qui correspond à 3 ou 4 jours après l'infection de cet animal.

Nous utilisons donc une souche canine directe et non une souche cultivée *in vitro*.

L'ampoule contenant le sang parasité est accompagné d'un flacon de 100 ml de PBS (*) grâce auquel nous réaliserons la solution infectante.

Cette souche de *Babesia* qui est une souche de troisième passage est sensée s'avérer très pathogène puisqu'à l'I.F.F.A. elle entraîne généralement la mort d'un chien splénectomisé en quatre jours seulement : mais il est bien évident que dans les conditions beaucoup plus naturelles dans lesquelles

(*) PBS = Phosphate Buffer Saline

nous intervenons (animaux non splénectomisés), on ne doit pas attendre une pathogénicité aussi sévère de la part des parasites.

c - Matériel d'infection

Il s'agit d'un matériel classique d'injection intra-veineuse comprenant notamment des seringues de 5 ml et des aiguilles à I.V.

d - Médicament chimio-préventif

Nous utilisons un produit dont on dispose depuis quelques années et qui a déjà fait ses preuves dans les espèces bovine et équine mais dont on a différé l'utilisation en raison d'un problème de résidus laissés dans la viande : il s'agit d'un dérivé de l'Imidazole communément désigné "Imidocarb" et commercialisé par les laboratoires WELLCOME sous le nom d'IMIZOL N.D.

- * Composition chimique : c'est du 3-3' dipropionate (2-imidazolin-2-yl)carbanilide.
- * Présentation : l'Imizol se présente sous la forme d'une solution injectable.
- * Dose : quand le produit est utilisé dans un but chimio-prophylactique, la dose nécessaire est de 2 à 5 mg/kg.
- * Voie d'injection : seules les voies sous-cutanées et intra-musculaires sont autorisées, la voie intraveineuse étant contre-indiquée.
- * Mode d'action : administré sur des animaux en état d'infection, l'Imizol permet, grâce à son élimination lente, de neutraliser progressivement le parasite sans cependant couper les processus immunitaires engendrés par la présence de la *Babesia* dans l'organisme hôte.

Nous allons donc utiliser dans notre expérimentation ce produit dans le cadre d'une méthode d'immunisation active, la chimio-immunisation, en provoquant une infection expérimentale par *Babesia canis* sous le couvert d'une protection chimique assurée par l'Imizol.

4 - Protocole expérimental

Cette première expérimentation se déroule en deux phases successives :

- une première phase : consistant en la primo-infection de chiens immunologiquement vierges de *Babesia canis* : elle nous permettra d'observer les réactions différentes des chiens face à l'infection en fonction du moment différent d'administration de l'Imidocarb, par rapport à l'injection de la souche infectante.
- une deuxième phase : consistant en la réinfection de ces mêmes chiens six mois plus tard de façon à évaluer le degré d'immunisation que ces animaux ont pu acquérir suite à la primo-infection, ce qui nous permettra éventuellement de déterminer le protocole vaccinal optimal.

a - Primo-infection

Dans cette première partie, seuls trois chiens sur les quatre dont nous disposons sont utilisés : le quatrième, qui ne sera ni infecté ni protégé dans cette première phase de l'expérimentation, servira de témoin négatif d'infection : c'est le chien "T". Devant être nécessairement moins manipulé que les autres, nous choisissons pour cette fonction le chien apparemment le plus craintif et le plus agressif, pour des raisons évidentes de sécurité.

Les trois autres chiens sont tous infectés simultanément par la même dose de la même souche de *Babesia*.

Suite à cette infection :

- l'un des chiens ne se voit pas administrer d'Imizol : c'est le chien "IM 0".
- un autre reçoit l'Imizol par voie intramusculaire trente minutes après l'infection : c'est le chien "Im 0,5"
- le dernier enfin reçoit l'Imizol par voie intramusculaire également, vingt quatre heures après l'infection : c'est le chien "Im 24".

b - Réinfection

Le chien T non utilisé lors de la primo-infection est maintenant soumis lui aussi à une infection expérimentale ; les chiens Im 0, Im 0,5, Im 24 font, quant à eux, l'objet d'une réinfection.

Nous utilisons, dans cette seconde phase, la même souche infectante que celle utilisée lors de la primo-infection, cherchant à mettre en évidence une protection contre une souche homologue seulement.

5 - Expérimentation proprement dite

* Primo-infection : la souche infectante est diluée au 1³ dans du PBS extemporanément et administrée aux chiens Im 0, Im 0,5 et Im 24 dans les conditions suivantes :

- chien Im 0 : 5 ml
- chien Im 0,5 : 5 ml
- chien Im 24 : 5 ml

par voie intra-veineuse dans la veine radiale.

L'Imizol, quant à lui, est administré par voie intramusculaire à la dose de 2mg/kg :

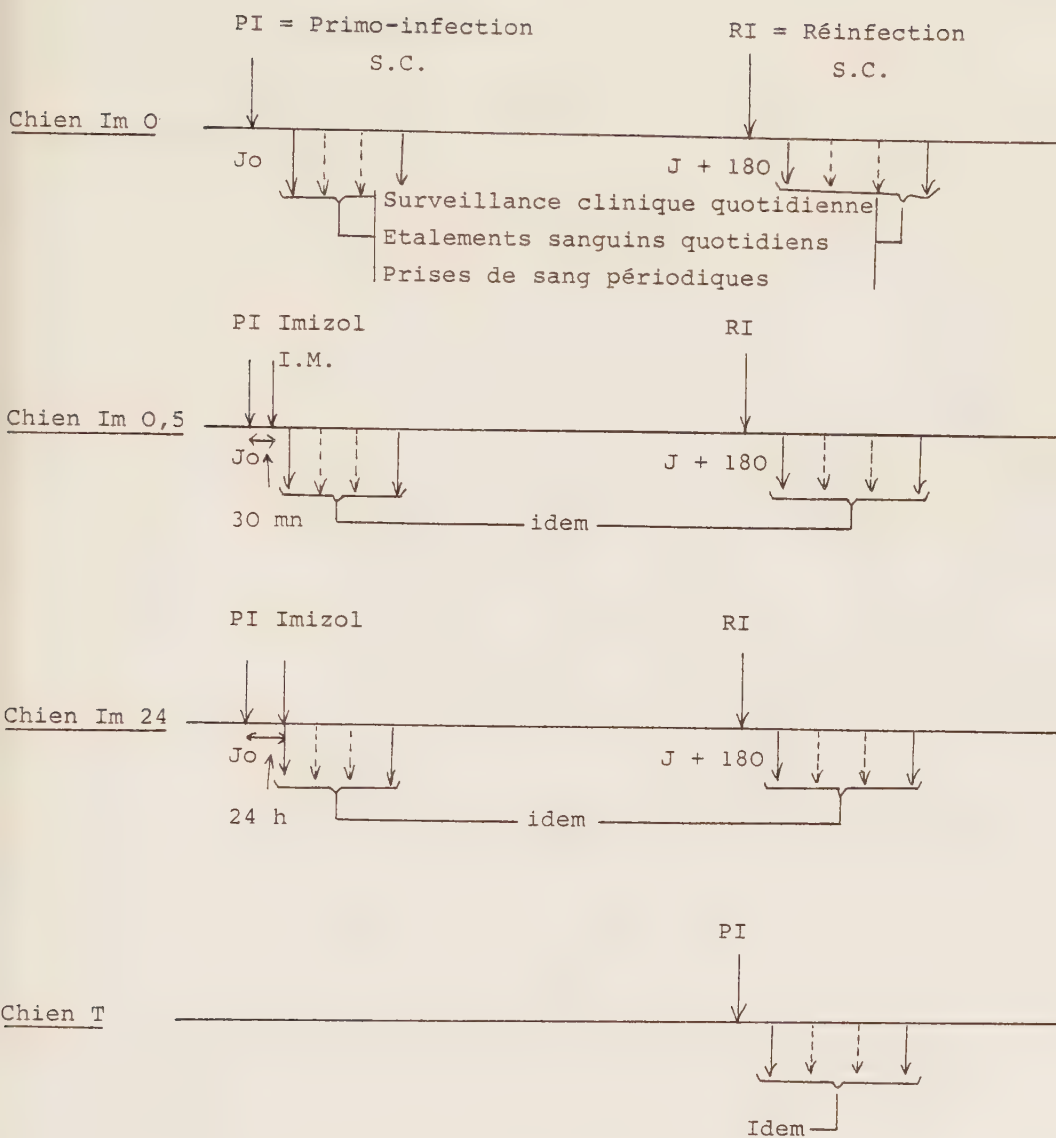
- chien Im 0 (18 kg) : ne reçoit pas d'Imizol
- chien Im 0,5 (20 kg) : 0,4 ml d'Imizol
- chien Im 24 (18 kg) : 0,36 ml d'Imizol

Les chiens sont suivis quotidiennement pendant les semaines suivantes selon les modalités mentionnées précédemment, à savoir qu'ils font l'objet d'une surveillance clinique quotidienne, d'étalements sanguins quotidiens et enfin de prises de sang périodiques.

* Réinfection : la souche infectante est administrée aux quatre chiens T, Im 0, Im 0,5, Im 24, à la dose identique pour chaque animal de 0,9 ml de sang parasité.

La souche infectante nous parvient, en provenance de l'I.F.F.A., dans un flacon contenant 4 ml de sang parasité sans avoir à réaliser des dilutions préalablement à l'injection de la solution infectante, contrairement à la primo-infection.

Suite à la réinfection, les chiens font l'objet des mêmes examens qu'après la primo-infection.



PROTOCOLE EXPERIMENTAL DE L'EXPERIMENTATION N° I

B - Résultats

Les résultats que nous donnons concernent principalement quatre critères :

- l'état clinique (appréciation subjective et prise de température)
- le taux d'infection babésienne (exprimé par un nombre pouvant aller de 0 à 20 représentant le nombre de champs microscopiques positifs, c'est-à-dire dans lequel on observe au moins un parasite intra- ou extra-cellulaire, comptés en considérant vingt champs microscopiques pris au hasard en queue et sur les bords des étalements sanguins. Le parallélisme existant entre le nombre de champs positifs et le taux d'infection au sein de ces champs nous a incité, par mesure de simplification, à ne prendre en considération que le premier paramètre, surtout dans la mesure où le nombre de *Babesia* par champ n'apportait pas de renseignements supplémentaires exploitables dans le cadre de notre travail).
- les variations dans la formule sanguine (évolution des taux de lymphocytes et de monocytes)
- l'évolution des sérologies anti-babésiennes (réaction de fixation du complément et réaction E.L.I.S.A.)

Nous nous bornerons dans ce chapitre à décrire les modifications de ces différents paramètres pour chaque animal, tels que nous les avons observés au cours de notre expérimentation : la discussion de ces résultats fera l'objet du paragraphe suivant.

1- Primo-infection

Il nous a semblé préférable, pour bien comparer les réactions des chiens, d'envisager les résultats sous l'angle des différents critères d'analyse plutôt qu'animal par animal, ce qui permet d'avoir une vue plus synthétique de l'évolution de ce travail.

a - Evolution clinique

* Chien Im O

- pendant les trois premiers jours suivant l'infection l'animal ne semble pas souffrir de la présence des *Babesia* dans son organisme : il conserve appétit et dynamisme, les urines et les selles sont normales de couleur et d'aspect, les muqueuses ont une teinte physiologique.
- à J + 4, le chien apparaît déjà adynamique et présente une inappétence totale envers sa nourriture.
- à J + 5, l'affaiblissement est plus intense que la veille, les muqueuses buccale et oculaire montrent une anémie certaine : les urines ont d'ailleurs une légère teinte brune et les selles sont plus liquides que les jours précédents et légèrement orangées.
- à J + 6, l'adynamie de l'animal est encore plus marquée, celui-ci évitant tout déplacement.
- à J + 7, le chien est dans un état de prostration intense, refusant toute nourriture ; l'ensemble du corps se trouve considérablement amaigri, les yeux endorbités ont perdu leur éclat, les muqueuses enfin ont une teinte ictérique.
- les jours suivants, l'état général du chien reste stationnaire (adynamie, prostration, inappétence, syndrome anémique avec ictère) : très progressivement, au cours des semaines suivantes, les symptômes d'hémolyse s'estompent pour disparaître totalement au bout de deux mois environ.

Nous avons néanmoins remarqué que cet animal ne s'est jamais totalement remis de cette infection puisqu'il a conservé jusqu'à la date de son abattage survenu pourtant neuf mois plus tard un état de maigreur évident et un caractère apathique.

- * Chien Im 0,5 : cet animal n'a présenté, à aucun moment, de signes cliniques rattachables à la babésiose : nous sommes donc déjà en mesure d'affirmer qu'il n'a pas contracté de maladie clinique.
- * Chien Im 24 : comme le précédent, cet animal n'a pas montré non plus de signes cliniques de babésiose.

b - Evolution thermique

- * Chien Im 0 : après 4 jours pendant lesquels l'animal conserve une température rectale physiologique, il apparaît dès J + 5 une hyperthermie sensible qui s'accroît encore à J + 6 en présentant un pic d'hyperthermie à 41,1°C. Puis la courbe thermique reprend une valeur physiologique présentant même transitoirement une courte période hypothermique à 37,7°C.

Un second pic d'hyperthermie à 40,3°C ne semblant d'ailleurs correspondre à aucune modification notoire sur le plan clinique, apparaît cependant à J + 24.

- * Chien Im 0,5 : une légère hyperthermie constatée les premiers jours semble en fait due à l'existence d'un abcès mûr siégeant sur la face postérieure de la cuisse gauche de l'animal et constaté le deuxième jour suivant l'infection expérimentale. Mais il n'apparaît à aucun moment de l'expérimentation de pic d'hyperthermie caractéristique et rattachable à l'existence d'une babésiose clinique.

- * Chien Im 24 : là encore, la courbe thermique ne présente aucune modification susceptible de montrer une quelconque réaction de l'organisme à l'injection de la souche virulente.

c - Evolution du taux d'infestation babésienne

- * Chien Im 0 : négatifs les trois premiers jours suivant l'infection, les étalements sanguins apparaissent positifs à partir du quatrième jour, d'abord faiblement pour donner finalement à J + 7 un pic de parasitémie à 19 champs positifs sur 20. Dès J + 8, les parasites sont déjà beaucoup plus rares dans le sang circulant. Il apparaît néanmoins à J + 18 un deuxième pic de parasitémie presque aussi important que le premier (17 champs positifs sur 20), puis le nombre de *Babesia* diminue et les parasites disparaissent pratiquement des étalements sanguins au cours des semaines suivantes, montrant parfois cependant une très légère infection persistante.
- * Chien Im 0,5 : négatifs les sept jours suivant l'infection, les étalements sanguins montrent dès J + 8 un pic parasitaire assez faible (4 champs positifs sur 20), puis le nombre de *Babesia* diminue et s'annule finalement pour redonner à J + 16 un second pic parasitaire inférieur au précédent (2 champs positifs sur 20). Aucune *Babesia* n'est plus décelée par la suite lors de la lecture des étalements sanguins.
- * Chien Im 24 : longtemps négative, la courbe d'infestation babésienne présente un pic très faible à J + 16 seulement avec un seul champ positif sur vingt suivi à J + 24 d'un deuxième pic de même amplitude. La parasitémie s'annule ensuite définitivement.

d - Evolution de la formule sanguine

Les numérations - formules quotidiennes que nous avons réalisées en laboratoire ont révélé que seuls les taux de lymphocytes et de monocytes présentaient des variations véritablement significatives et donc susceptibles d'être prises en compte dans cette étude.

* Chien Im O :

- une semaine après l'infection expérimentale, le taux de lymphocytes dans le sang accuse une baisse brutale suivie après une dizaine de jours d'un retour à la normale : les valeurs à J + 52 sont même supérieures aux valeurs initiales avec un pic à 43% mais le taux de lymphocytes reprend progressivement des valeurs physiologiques.
- les variations monocytaires sont à peu près parallèles dans leur évolution aux variations lymphocytaires mais beaucoup moins importantes dans leur amplitude et donc moins caractéristiques.

* Chien Im O,5 : longtemps stable, le taux de lymphocytes présente 5 semaines environ après l'infection une augmentation dont le sommet est atteint à J + 51 (53%) puis accuse un retour à des valeurs normales dès la semaine suivante.

- Le taux de monocytes ne varie pas dans des proportions vraiment significatives.

* Chien Im 24 :

- quinze jours environ après la primo-infection, la courbe d'évolution lymphocytaire présente un pic assez net avec une valeur maximale à J + 16 (54%) puis le taux redevient progressivement normal.

- Il convient de remarquer le parallélisme étroit entre les courbes d'évolution lymphocytaire et monocytaire, la deuxième décrivant néanmoins des variations moins importantes en amplitude.

e - Evolution de la sérologie anti-babésienne

Les sérums des chiens Im O, Im O,5 et Im 24 ont été analysés à l'I.F.F.A. dans le service du Dr MOREAU selon deux techniques :

- la réaction de fixation du complément
- la réaction E.L.I.S.A.

Seul le chien Im O, témoin positif d'infection, a présenté une montée d'anticorps décelable par les deux techniques, les deux autres chiens protégés par l'Imidocarb ayant présenté des titres nuls à la fois avec la réaction de fixation du complément et le test E.L.I.S.A. Il semble donc que, sur le plan humoral, l'immunité acquise au moyen d'une infection expérimentale réalisée sous le couvert d'un produit chimio-préventif tel que l'IMIZOL N.D. ne soit pas équivalente à une immunité acquise à la suite d'une infection expérimentale simple.

* Comparaison des deux méthodes :

- Fixation du complément : les anticorps décelés par la méthode de fixation du complément sont mis en évidence plus précocement, leur taux s'accroît plus vite mais atteint au bout d'une quinzaine de jours un pseudo-palier, en fait très légèrement ascendant jusqu'à deux mois après l'infection expérimentale, date à laquelle les anticorps sont décelables à la dilution maximale de 1/1024. Ce taux diminue ensuite progressivement au cours des mois suivants pour atteindre, six mois après l'infection, un taux de dilution très faible de 1/4.

- Réaction E.L.I.S.A. : les anticorps décelés selon la méthode E.L.I.S.A. sont d'apparition plus tardive, leur taux s'accroît moins rapidement mais atteint au bout de 6 semaines un pic beaucoup plus élevé qu'avec la méthode précédente (D.O.=1,2). On constate dès la 7^e semaine une chute notable du taux d'anticorps qui se stabilise néanmoins à partir de la 9^e semaine avec une D.O. de l'ordre de 0,9 pendant les mois suivants.

Il ressort de la comparaison de ces deux méthodes que la réaction E.L.I.S.A. constitue une méthode de choix et d'avenir pour la sérologie des babésioses.

2 - Réinfection

a - Evolution clinique

- * Chien T : il s'agit pour lui d'une primo-infection. La réaction de cet animal face à l'injection de la souche infectante nous permet de vérifier la virulence de la souche d'épreuve.
- pendant les quatre premiers jours suivant l'infection, l'état général du chien n'est pas modifié.
- à partir de J + 5, l'animal semble adynamique, refuse sa nourriture et présente déjà un état de polypnée prononcée : ses muqueuses sont anémiées et ses urines légèrement plus teintées que les jours précédents.
- le lendemain, à J + 6, l'affaiblissement est encore plus marqué et les muqueuses présentent, en plus du caractère anémique de la veille, une légère teinte ictérique ; l'animal apparaît également plus essoufflé.

- les jours suivants, les symptômes se maintiennent puis rétrocedent très progressivement, laissant alors s'installer une babésiose chronique.

Comme nous l'avions observé en ce qui concerne le chien Im O lors de la primo-infection, l'état anémique du chien T a pratiquement disparu trois semaines plus tard ; en revanche, un état de cachexie s'est progressivement développé au cours de la maladie.

- * Chien Im O : cet animal n'a présenté à aucun moment de symptômes de babésiose.
- * Chien Im O,5 : cet animal, lui aussi, n'a présenté aucune modification de l'état général susceptible d'évoquer une babésiose.
- * Chien Im 24 : durant les quatre premiers jours suivant l'infection, l'état général de l'animal reste satisfaisant.
 - dès J + 5, il est trouvé, comme le chien T, en polypnée, adynamique, anorexique, avec des urines légèrement teintées également ; le caractère anémique est cependant moins accentué.
 - le lendemain, à J + 6, les symptômes sont plus marqués que la veille. Ce chien présente cependant un ictère moins prononcé que celui du chien T.
 - trois semaines plus tard, le caractère anémique a bien régressé mais l'amaigrissement qui s'est progressivement installé dans la forme chronique est maintenant assez marqué.

b - Evolution thermique

- * Chien T : l'animal présente, le 6^e jour suivant l'infection, un premier pic d'hyperthermie à 41,2°C puis la température diminue pour redonner à J + 11 un second pic d'hyperthermie à 41,1°C. La température reprend ensuite des valeurs normales avec des oscillations purement physiologiques.
- * Chien Im O : la courbe thermique semble présenter à J+6 un léger pic thermique à 40,1°C, mais ceci est peu net ; il apparaît également à J + 14 un deuxième pic d'hyperthermie de même amplitude que le premier : en fait, il ne ressort de l'examen de cette courbe absolument rien de très caractéristique pouvant évoquer une éventuelle réponse de l'organisme à la réinfection.
- * Chien Im O,5 : l'examen de la courbe thermique ne révèle aucune hyperthermie particulière.
- * Chien Im 24 : la courbe thermique de ce chien ressemble beaucoup à celle du chien T avec l'apparition d'un premier pic thermique à J + 5 (41°C) suivie d'une baisse de température puis l'apparition d'un second pic thermique (40,4°C) à J + 10 après lequel la température redevient normale.

c - Evolution du taux d'infestation babésienne

- * Chien T : négatifs les quatre premiers jours, les étalements sanguins montrent à partir de J + 5 une légère positivité aboutissant dès J + 6 à un pic parasitaire à 5 champs positifs sur 20 pour redonner après une diminution un deuxième pic à J + 11 de même amplitude. Il apparaît enfin à J + 15 un troisième pic parasitaire à 11 champs positifs sur 20.
- * Chien Im O : tous les étalements réalisés à partir de ce chien se sont toujours avérés négatifs.

- * Chien Im 0,5 : cet animal comme le précédent n'a jamais présenté de phase d'infestation parasitaire.
- * Chien Im 24 : négatifs les quatre premiers jours suivant la réinfection, les étalements montrent un pic d'infestation parasitaire à J + 5 de 9 champs positifs sur 20, puis après une quasi-disparition des *Babesia* du sang périphérique un second pic à J + 9 de 16 champs positifs sur 20 et enfin à J + 15 un troisième pic nettement inférieur aux précédents (4 champs positifs sur 20). Les frottis réalisés les jours suivants ne révèlent plus la présence d'aucun parasite.

d - Evolution de la formule sanguine

- * Chien T :
 - la courbe lymphocytaire montre à J + 7 un pic lymphocytaire très important (67%) suivi d'un retour à la normale transitoire puis une seconde augmentation du taux de lymphocytes environ trois semaines plus tard (52%).
 - l'examen de la courbe d'évolution du taux de monocytes révèle une augmentation de la population monocyttaire entre J + 9 et J + 19, correspondant à peu près au premier pic lymphocytaire, alors qu'aucune variation du taux de monocytes ne semble correspondre au second pic lymphocytaire.
- * Chien Im 0 :
 - la courbe lymphocytaire apparaît très stable ne présentant que des oscillations physiologiques.
 - la courbe d'évolution monocyttaire ne présente pas non plus de variations significatives.
- * Chien Im 0,5 : les courbes lymphocytaire et monocyttaire ne révèlent là aussi que des variations non significatives.

* Chien Im 24

- l'examen de la courbe lymphocytaire de ce chien montre des analogies nettes avec celle du chien T avec de la même façon un pic à J + 7 très important (67%) suivi rapidement d'un retour à des valeurs normales.
- la courbe d'évolution monocytaire présente elle aussi une augmentation du nombre de monocytes significative correspondant approximativement au pic lymphocytaire.

e - Evolution de la sérologie anti-babésienne

Les sérologies réalisées sur les chiens Im 0,5 et Im 24 se sont encore révélées négatives avec les deux techniques.

Quant au chien Im 0, la réinfection s'est traduite sérologiquement par une augmentation rapide du taux déjà élevé d'anticorps décelables par la réaction E.L.I.S.A.; mais le titre sérique a très vite repris sa valeur initiale correspondant à une D.O. de 0,9 environ.

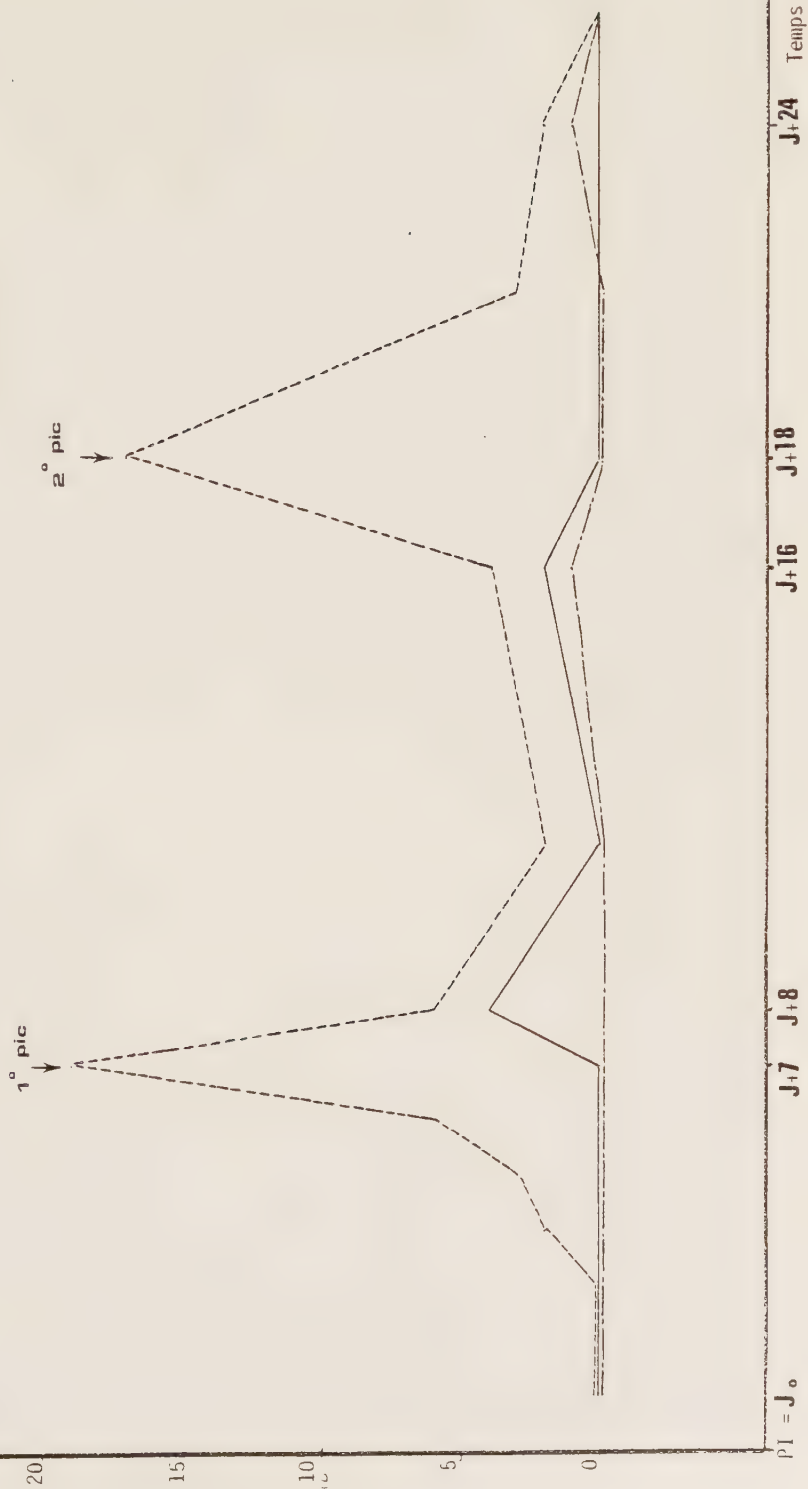
Animaux utilisés	PRIMO - INFECTION (Jo)			RE - INFECTION (J + 180)		
	Protocole	Clinique	Parasitémie	Clinique	Parasitémie	Observations
Chien Im O	Infection seule	++++	J + 7 puis J + 18 +++++	O	O	Immunité acquise
Chien Im O,5	Infection + traitement 30 mn après	O	J + 8 puis J + 16 +	O	O	Immunité acquise
Chien Im 24	Infection + Traitement 24 h après	O	J + 16 puis J + 24 : +	+++	J + 5 puis J + 9 puis J + 15 ++	Immunité incomplète
Chien T	NON UTILISE LORS DE LA PRIMO-INFECTION			++++	J + 6 puis J + 11 puis J + 15 : ++	La souche de ré- infection utilisée chez les chiens Im O, Im O,5 et Im24 était virulente

TABLEAU SYNOPTIQUE DE L'EXPERIMENTATION N° I

Primo infection : courbes d'infestation piropoplasmique

Nombre de champs microscopiques positifs sur 20

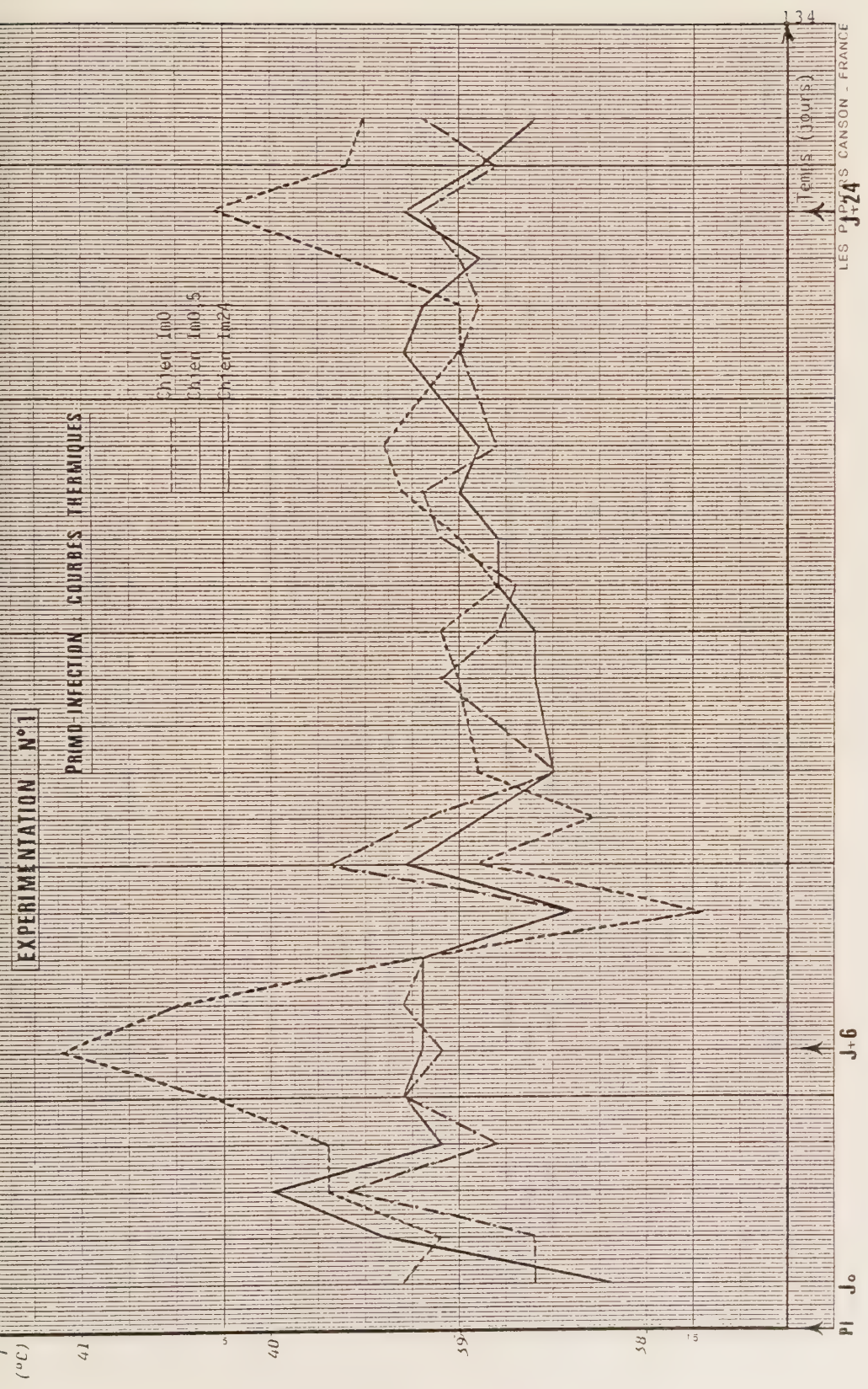
Chien Im 0
Chien Im 0,5
Chien Im 24



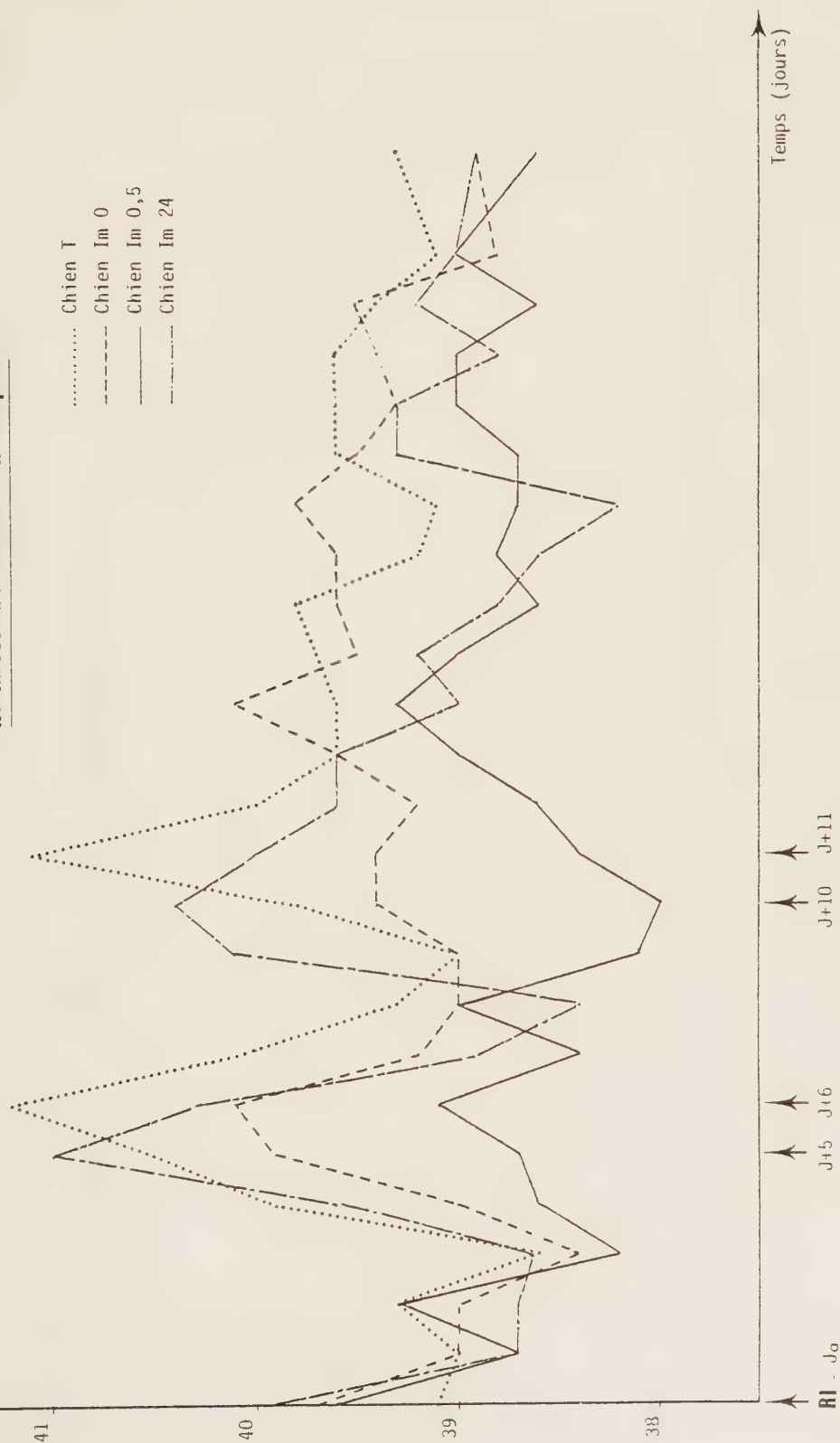
EXPERIMENTATION N°1

PRIMO-INFECTION : COURBES THERMIQUES

Chien Im0
Chien Im0,5
Chien Im24



Ré-infection : courbes thermiques

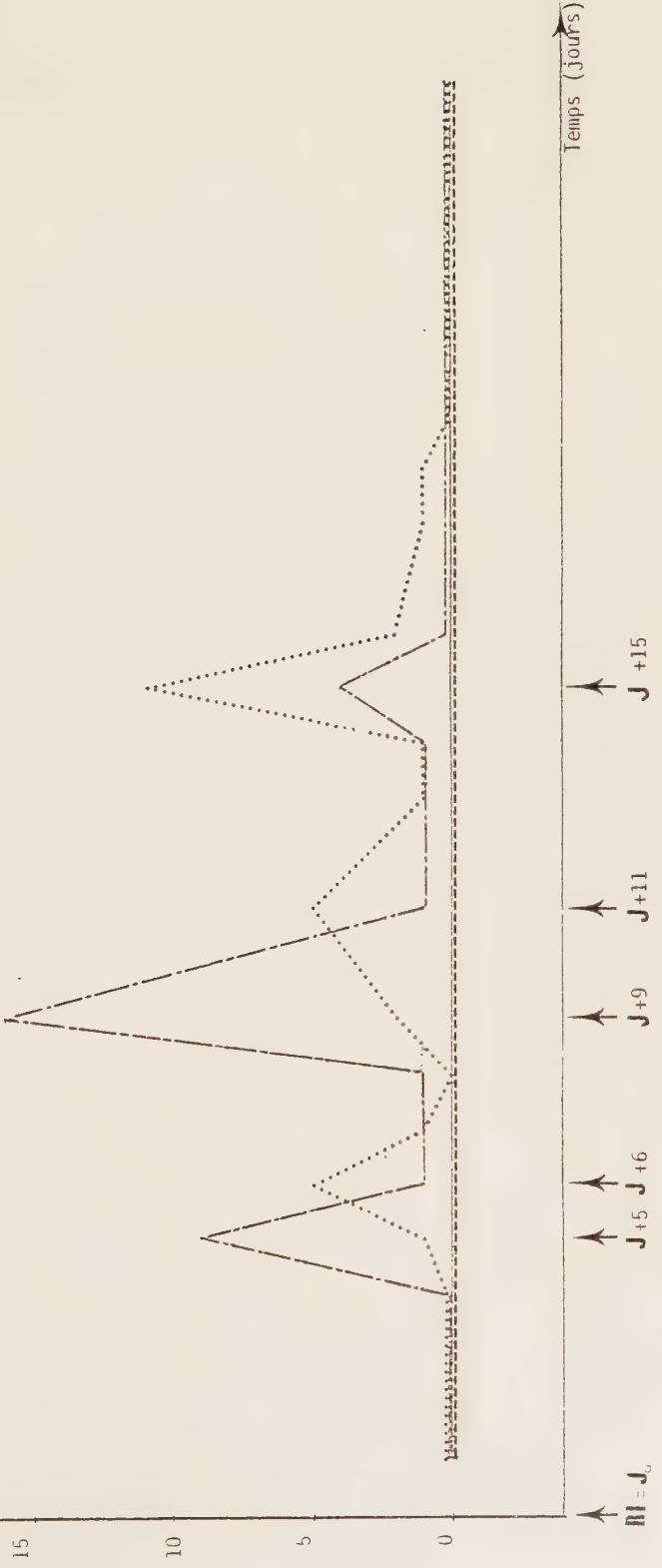


Nombre de champs microscopiques
positifs sur 20

EXPERIMENTATION N°1

Ré-infection : courbes d'infestation piroplasmique

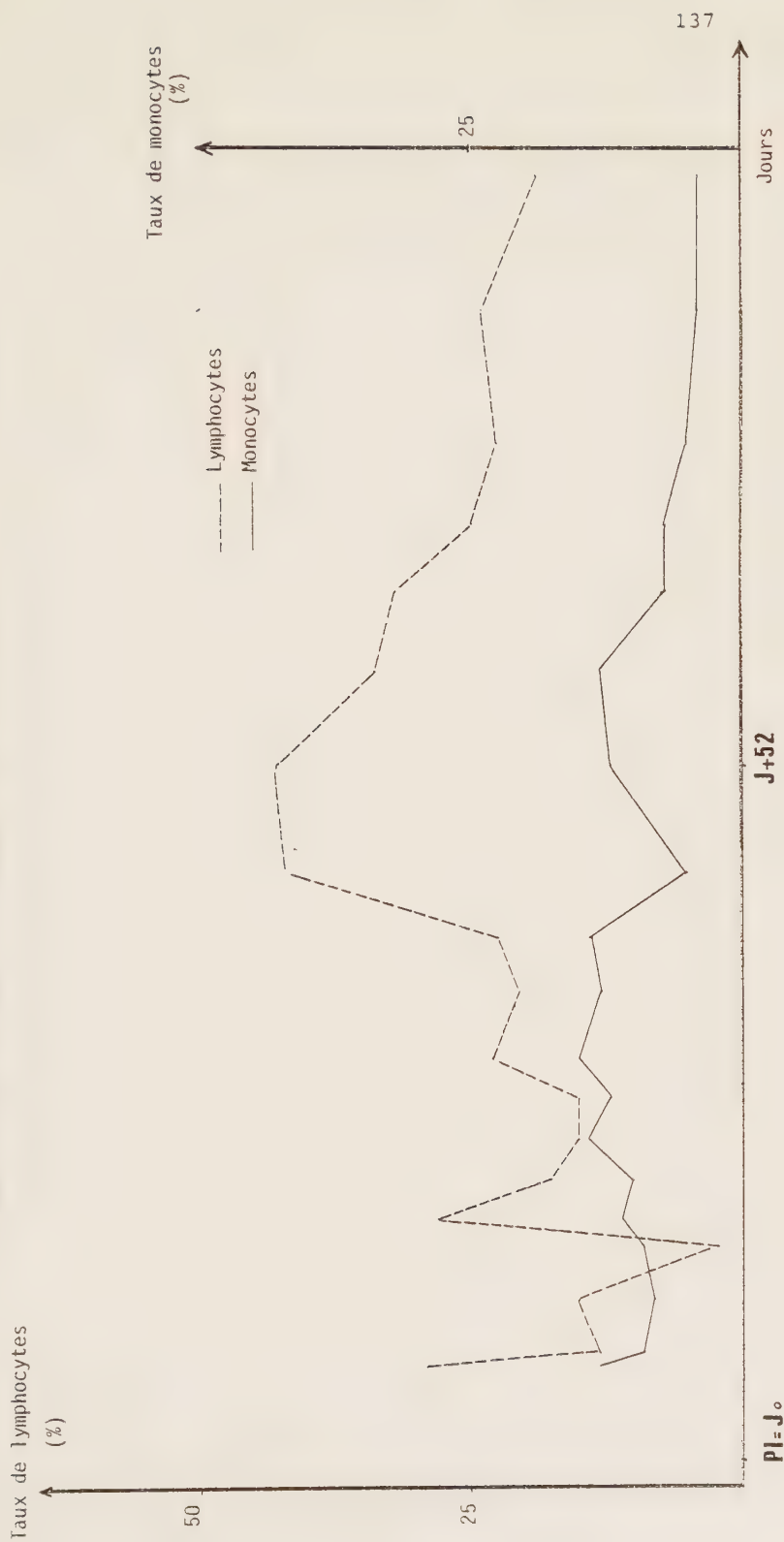
- Chien T
- - - - Chien Im 0
- Chien Im 0,5
- - - - Chien Im 24



EXPERIMENTATION N° 1

Primo-infection : Taux de lymphocytes et de monocytes

Chien Im 0

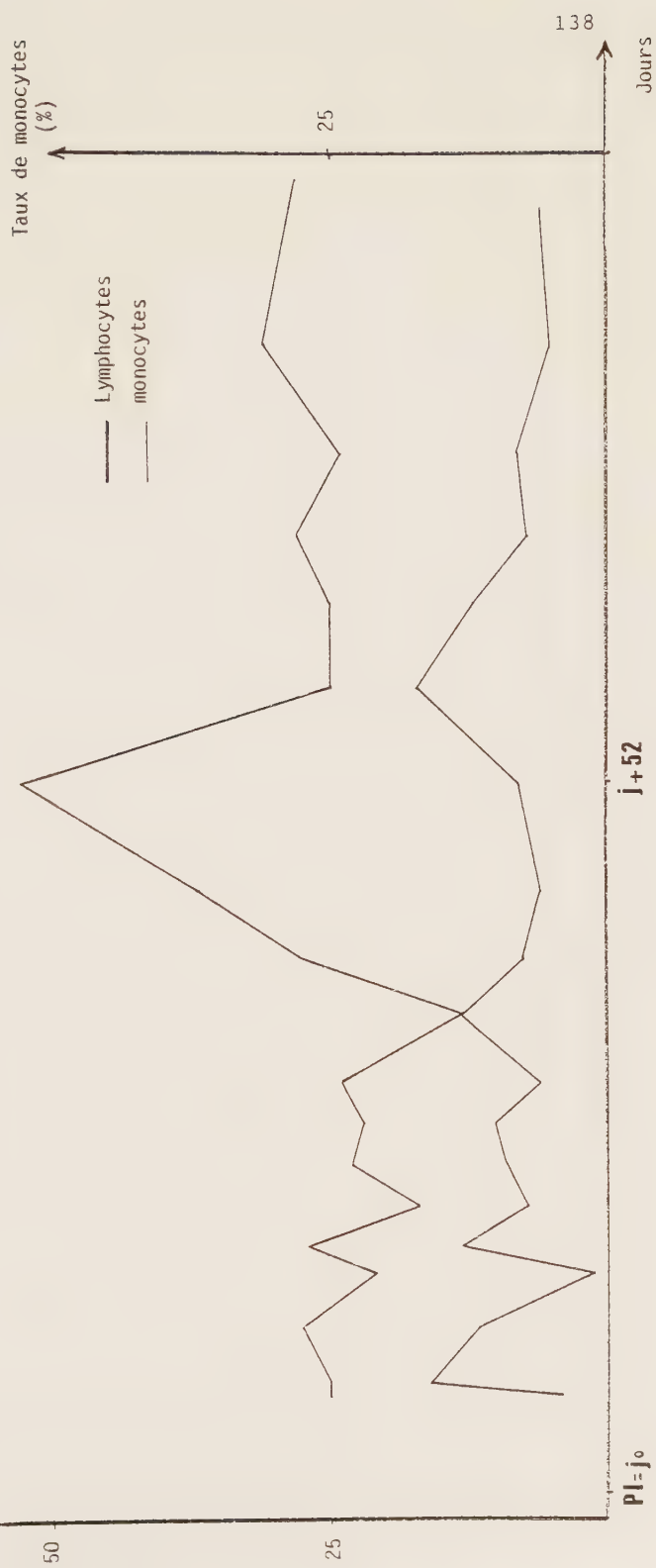


EXPERIMENTATION N° 1

Taux de Lymphocytes
(%)

Primo-infection : TAUX DE LYMPHOCYTES ET DE MONOCYTES

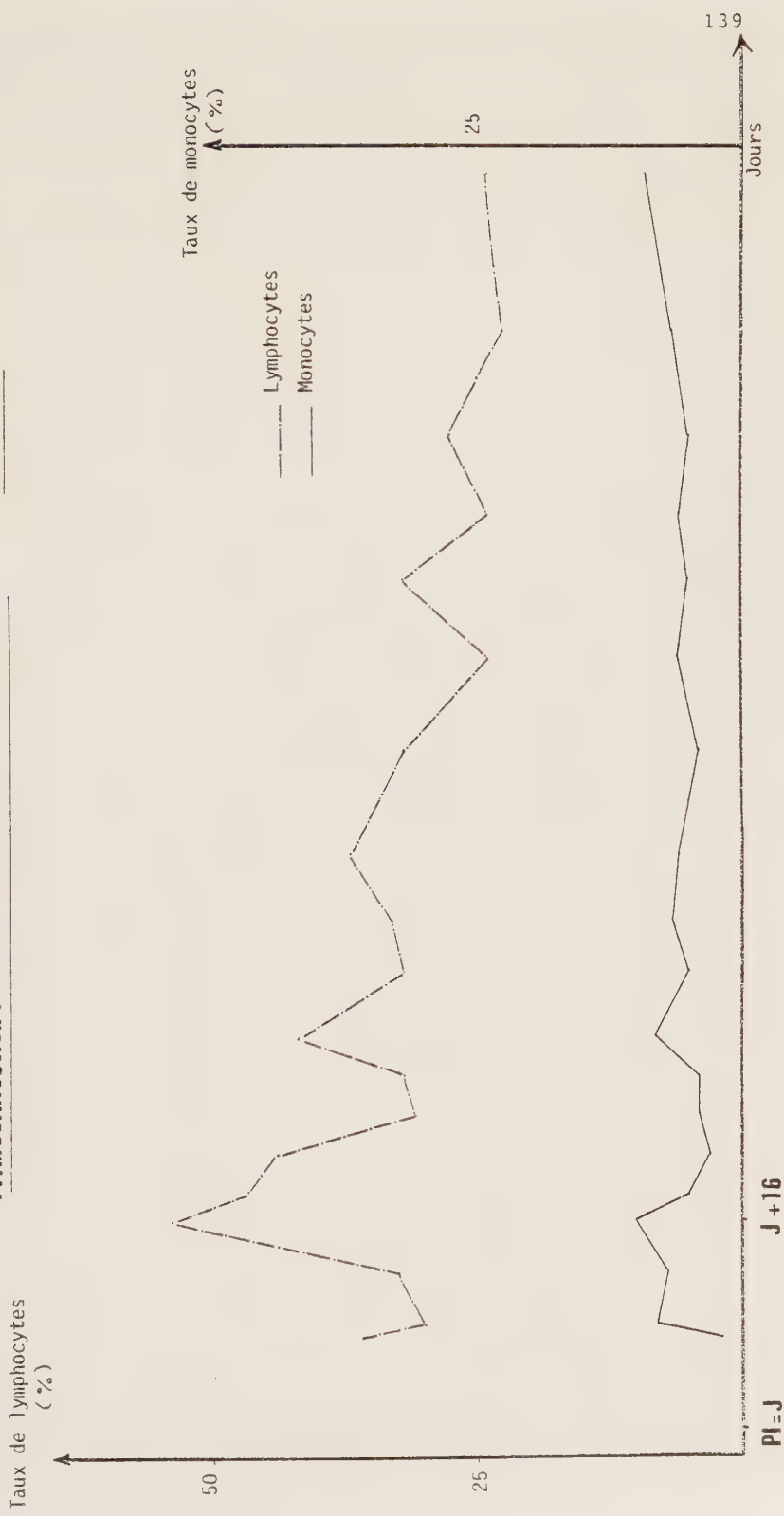
CHIEN Im 0,5



EXPERIMENTATION N°1

Primo_infection : TAUX DE LYMPHOCYTES ET DE MONOCYTES

CHIEN Im 24



Chien T

EXPERIMENTATION N°1

Réinfection : Evolution des taux de lymphocytes et de monocytes

Taux de lymphocytes (%)

Taux de monocytes (%)

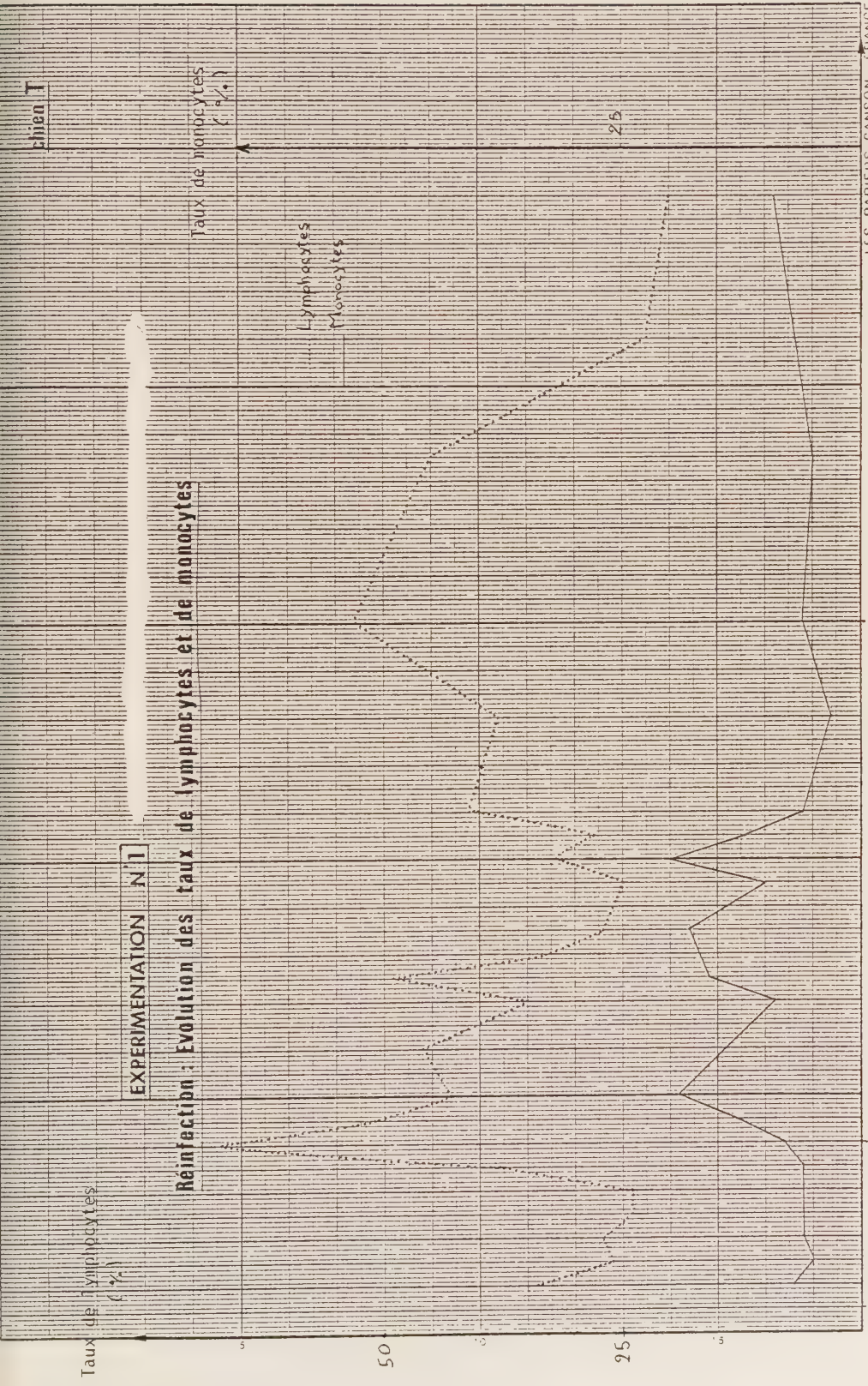
Lymphocytes
Monocytes

LES PAPIERS CANSON

J + 29

J + 7

R1-J.



chien Im 0

EXPERIMENTATION N° 1

Réinfection : Evolution des taux de lymphocytes et de monocytes



Reinfection

EXPERIMENTATION N°1

Evolution des taux de lymphocytes et monocytes

Taux de lymphocytes (%)

1%

50

100

150

200

250

300

350

400

450

500

550

600

650

700

750

800

850

900

950

1000

1050

1100

1150

1200

1250

1300

1350

1400

1450

1500

1550

1600

1650

1700

1750

1800

1850

1900

1950

2000

2050

2100

2150

2200

2250

2300

2350

2400

2450

2500

2550

2600

2650

2700

2750

2800

2850

2900

2950

3000

3050

3100

3150

3200

3250

3300

3350

3400

3450

3500

3550

3600

3650

3700

3750

3800

3850

3900

3950

4000

4050

4100

4150

4200

4250

4300

4350

4400

4450

4500

4550

4600

4650

4700

4750

4800

4850

4900

4950

5000

5050

5100

5150

5200

5250

5300

5350

5400

5450

5500

5550

5600

5650

5700

5750

5800

5850

5900

5950

6000

6050

6100

6150

6200

6250

6300

6350

6400

6450

6500

6550

6600

6650

6700

6750

6800

6850

6900

6950

7000

7050

7100

7150

7200

7250

7300

7350

7400

7450

7500

7550

7600

7650

7700

7750

7800

7850

7900

7950

8000

8050

8100

8150

8200

8250

8300

8350

8400

8450

8500

8550

8600

8650

8700

8750

8800

8850

8900

8950

9000

9050

9100

9150

9200

9250

9300

9350

9400

9450

9500

9550

9600

9650

9700

9750

9800

9850

9900

9950

10000

10050

10100

10150

10200

10250

10300

10350

10400

10450

10500

10550

10600

10650

10700

10750

10800

10850

10900

10950

11000

11050

11100

11150

11200

11250

11300

11350

11400

11450

11500

11550

11600

11650

11700

11750

11800

11850

11900

11950

12000

12050

12100

12150

12200

12250

12300

12350

12400

12450

12500

12550

12600

12650

12700

12750

12800

12850

12900

12950

13000

13050

13100

13150

13200

13250

13300

13350

13400

13450

13500

13550

13600

13650

13700

13750

13800

13850

13900

13950

14000

14050

14100

14150

14200

14250

14300

14350

14400

14450

14500

14550

14600

14650

14700

14750

14800

14850

14900

14950

15000

15050

15100

15150

15200

15250

15300

15350

15400

15450

15500

15550

15600

15650

15700

15750

15800

15850

15900

15950

16000

16050

16100

16150

16200

16250

chien Im 24

Reinfection :

Evolution des taux des lymphocytes et des monocytes

EXPERIMENTATION N° 1

Taux de lymphocytes
(%)

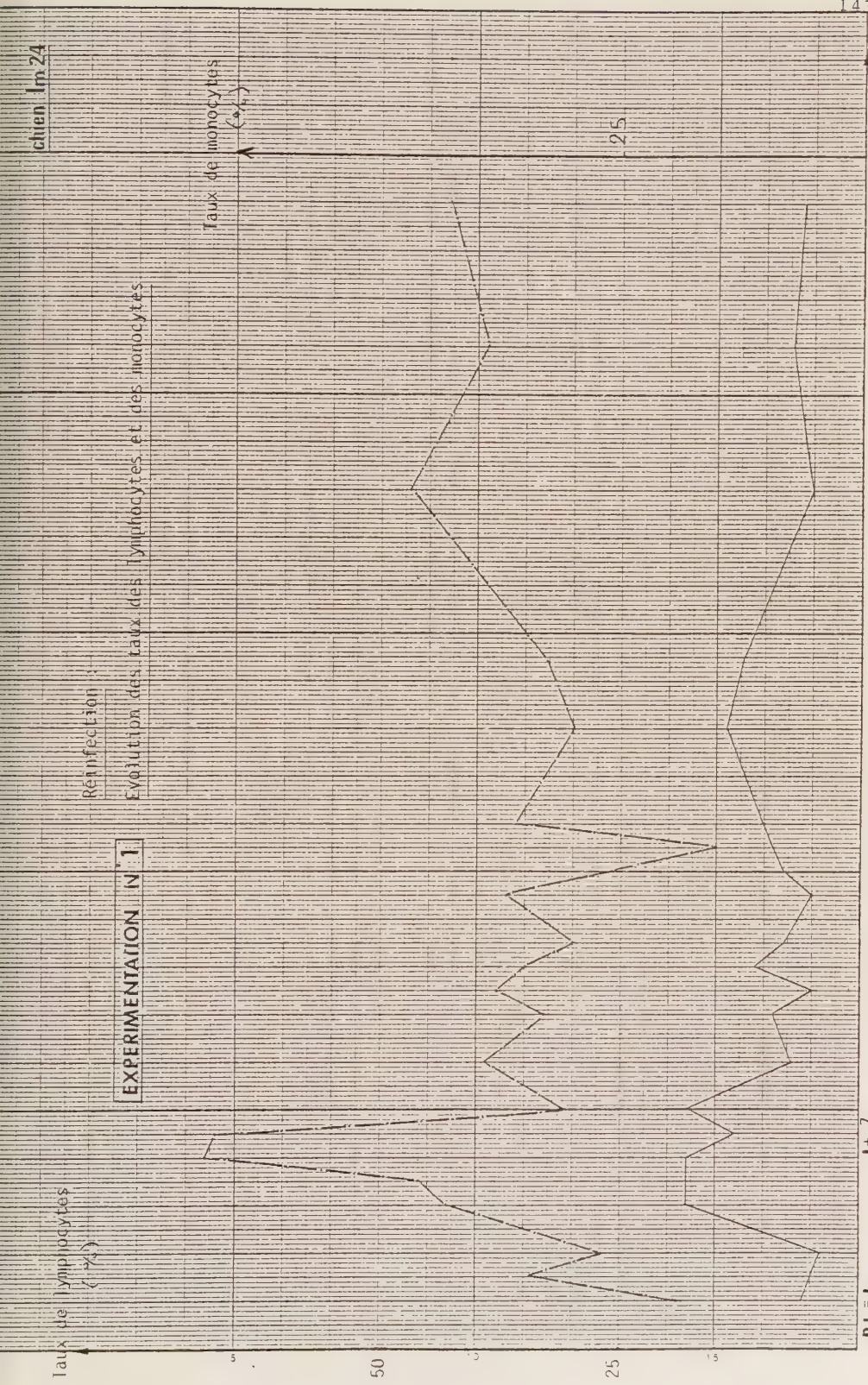
Taux de monocytes
(%)

RI = J₀

J + 7

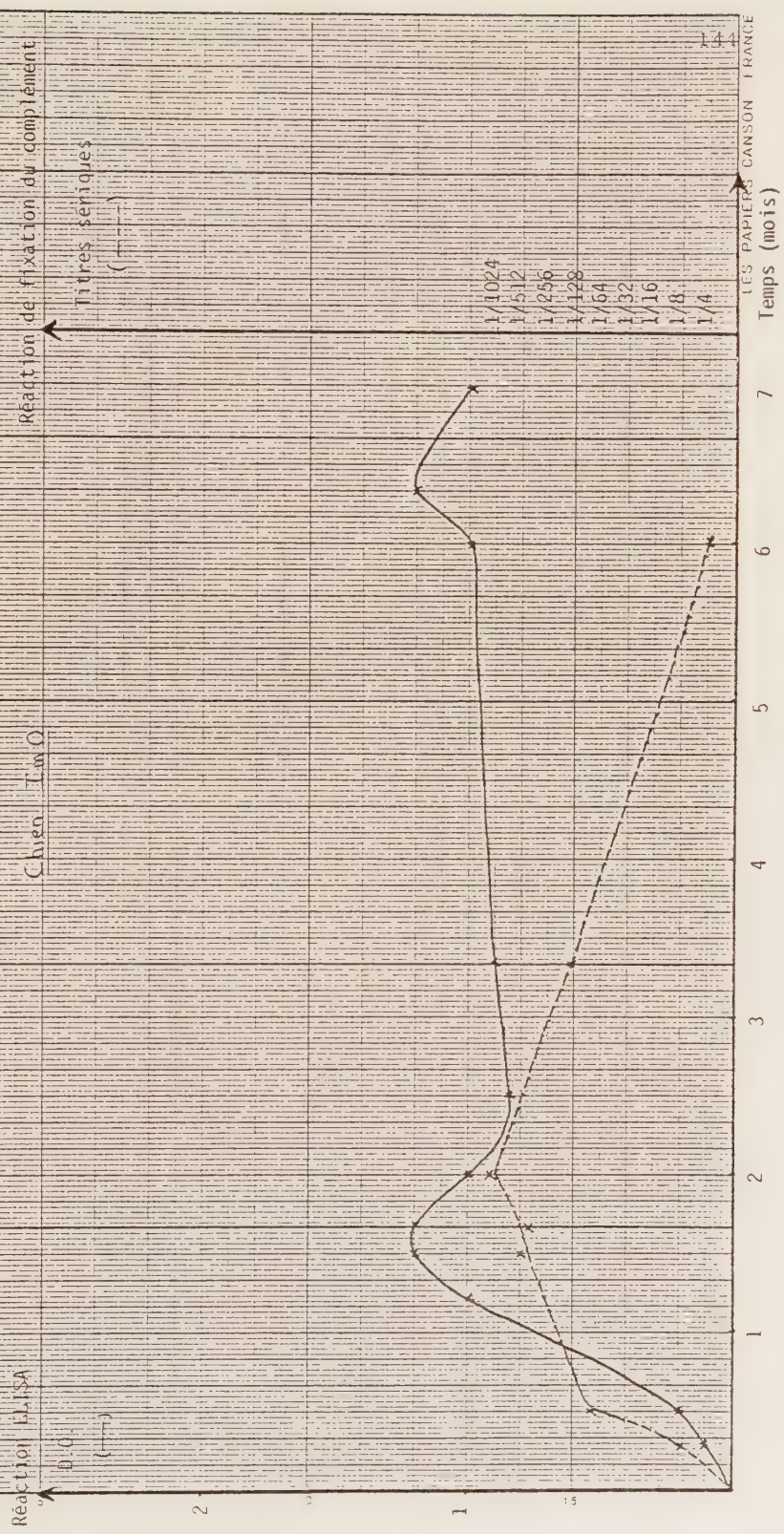
LES PAPRIEUX (N° 5) FRANCE

143



EXPERIMENTATION N°1

Evolution des sérologies anti-babesiennes (Réaction de fixation du complément et réaction ELISA)



C - Discussion

Nous nous proposons, dans ce paragraphe, de donner une interprétation des résultats recueillis dans le paragraphe précédent en comparant notamment au moyen des courbes établies les réactions des différents chiens.

* Chien Im O :

- l'examen des différents paramètres enregistrés a montré que ce chien a manifesté, lors de la primo-infection, une babésiose clinique évidente et assez sévère bien que n'ayant pas entraîné la mort de l'animal au terme de l'évolution de la maladie. Témoignent de cette affection une courbe thermique significative, une symptomatologie spécifique et expressive, une parasitémie à la fois importante et caractéristique dans son évolution, des modifications de la formule sanguine concernant essentiellement les taux lymphocytaire et monocytaire et enfin des sérologies apparaissant très rapidement positives et croissantes au début, preuves de la mise en jeu par l'organisme de mécanismes de défense immunitaire de nature humorale.
- à l'occasion de la réinfection, ce chien n'a présenté en revanche aucun symptôme rattachable à la babésiose, les variations observées au niveau des courbes thermiques ne nous ont pas paru caractéristiques de la maladie, la parasitémie s'est avérée nulle sur tous les étalements sanguins, les courbes représentant les taux lymphocytaire et monocytaire ont conservé des valeurs physiologiques. Il semble néanmoins que cette réinfection ait renforcé l'immunité de l'animal puisque l'on peut observer au niveau de la courbe d'évolution sérologique une légère hausse, d'ailleurs passagère, du taux d'anticorps décelables par la méthode E.L.I.S.A.

* Chien Im 0,5

- L'observation clinique de l'animal et l'examen de sa courbe thermique montrent que ce chien n'a pas contracté de babésiose clinique ; néanmoins, l'existence de pics de parasitémie, si faibles soient-ils, constitue la preuve que le parasite s'est tout de même multiplié dans l'organisme hôte, et ce pendant un temps assez long étant donné la situation des pics parasitaires dans le temps. La courbe d'évolution lymphocytaire décrit d'ailleurs un pic très tardif.

En conclusion, si l'animal n'a pas exprimé la maladie de façon clinique, il est certain que son organisme a réagi à la présence des *Babesia* dans le torrent circulatoire.

La négativité des sérologies réalisées sur ce chien demeure toutefois sans explication.

- La réinfection de cet animal, quelques mois plus tard, ne s'est traduite par aucune modification ni de son état général ni de sa formule sanguine; les étalements sanguins n'ont d'ailleurs même pas révélé la présence du parasite dans le sang circulant.

L'animal s'est donc montré particulièrement insensible à la réinfection.

* Chien Im 24 :

- La primo-infection s'est traduite, chez ce chien, par l'absence de modifications cliniques, confirmée par l'homogénéité de la courbe d'évolution thermique et la détection d'une parasitémie extrêmement faible et tardive ; seules les courbes lymphocytaire et, à un degré moindre, monocytaire montrent que l'animal a tout de même réagi à l'introduction de parasites dans son organisme.

On n'explique pas non plus la négativité des différentes sérologies réalisées sur ce chien.

- En revanche, l'animal a réagi à la réinfection en contractant une babésiose clinique sévère avec

modification importante de l'état général accompagnée de modifications thermiques caractéristiques de l'affection, d'une parasitémie importante et d'une formule sanguine très modifiée.

Ce chien a donc réagi à la réinfection comme s'il s'agissait en fait d'une primo-infection : tout porte donc à croire que l'animal n'a pas eu suite à la primo-infection une réaction suffisamment immunigène pour le mettre à l'abri d'une réinfection.

- * Chien T : témoin positif d'infection, ce chien a contracté une babésiose clinique classique avec modification profonde de l'état général, un clocher thermique caractéristique, une infestation parasitaire ponctuelle et massive et des modifications profondes de la formule sanguine.

Il convient déjà de remarquer la ressemblance étroite, à tous les niveaux, des courbes respectives des chiens Im 24 et T, reflet de leur comportement identique le premier face à la réinfection, le deuxième face à la primo-infection.

D - Conclusion

Il ressort de l'examen du paragraphe précédent que :

- la souche de *Babesia* fournie par l'I.F.F.A. s'est montrée parfaitement virulente, bien que non létale, puisque le chien Im O, témoin positif d'infection, a contracté une babésiose clinique typique lors de la primo-infection, de même d'ailleurs que le chien T, lui aussi témoin positif d'infection, dans la deuxième partie de cette expérimentation.

- il existe, en matière de babésiose canine, une immunité naturelle post-infectieuse d'une durée au moins égale à six mois puisque le même chien Im O soumis à une réinfection au moyen de la même souche de *Babesia* que lors de la primo-infection six mois auparavant s'est avéré être résistant envers cette souche : il est bien évident que cette expérimentation ne permet rien de conclure en ce qui concerne des souches de vaccination et d'épreuves hétérologues.
- les chiens Im O,5 et Im 24 qui ont été traités par l'Imizol lors de la primo-infection, bien que présentant une parasitémie post-infectieuse manifeste, n'ont pratiquement pas déclaré de babésiose clinique, à l'inverse du chien Im O : on peut donc affirmer, en conséquence, que le produit a bien exercé sur eux l'effet protecteur attendu.
- ces mêmes chiens Im O,5 et Im 24 ont néanmoins réagi très différemment à l'occasion de la réinfection puisque le chien Im 24 a eu une évolution très comparable à celle du chien T, témoin positif d'infection, en présentant des signes cliniques très caractéristiques de la maladie, preuve de sa non-immunisation suite à sa primo-infection, alors que le chien Im O,5 comme le chien Im O s'est avéré parfaitement résistant à la réinfection en n'extériorisant aucun symptôme pouvant évoquer la babésiose.
- une faible variation du protocole, en ce qui concerne l'intervalle de temps séparant le traitement de la primo-infection, s'est traduite dans cette expérimentation par des différences considérables de comportement de l'animal vis-à-vis de la réinfection :

- * l'infection bactérienne sous couvert d'une chimio-prévention exécutée une demi-heure après l'infection a été pleinement immunigène, au même titre que l'infection expérimentale pure, non traitée, dont la guérison a été spontanée.
- * en revanche, le traitement administré 24 heures après l'infection expérimentale et dont on aurait pu espérer une meilleure immunogénèse n'a finalement agi qu'en diminuant la réceptivité à la maladie clinique lors de la réinfection, tout en laissant s'établir une parasitémie importante.

Restant néanmoins conscients de l'importance dans une expérimentation utilisant un aussi petit nombre d'animaux, du facteur "individualité" propre à chaque animal, nous nous garderons bien de tirer de ces observations ponctuelles des enseignements généraux concernant l'action de l'Imizol sur la multiplication des *Babesia* et son rôle dans l'acquisition d'une immunité anti-babésienne avant de pouvoir poursuivre, dans un proche avenir, des expérimentations similaires sur un nombre plus élevé d'animaux.

- Il nous est cependant permis de supposer que, chez le chien comme chez les Bovins, l'infection babésienne jugulée par un traitement précoce par l'Imidocarb est immunigène, dans la mesure où les chiens résistent à une réinfection par une souche homologue.
- Les sérologies réalisées selon les méthodes de fixation du complément et E.L.I.S.A. se sont avérées décevantes car négatives sur les chiens ayant fait l'objet d'une chimio-immunisation par l'Imidocarb, contrairement aux sérologies réalisées selon les mêmes techniques sur le chien témoin d'infection positive.

Il apparaît donc impossible de juger du degré d'immunisation des chiens traités par l'Imidocarb par les moyens habituels d'évaluation de l'immunité humorale; il faut donc admettre que les mécanismes humoraux ne suffisent pas dans ce cas à expliquer l'immunité dont jouissent les animaux face à une réinfection et qu'il convient probablement de faire intervenir des phénomènes d'immunité cellulaire dont la mise en évidence aurait dépassé le cadre de cette étude.

En effet, une simple infection expérimentale d'une part et une infection expérimentale réalisée sous couvert d'un traitement chimio-préventif d'autre part ne semblent pas déclencher les mêmes phénomènes immunitaires, bien qu'en apparence les chiens aient un comportement identique lors de la réinfection, à savoir une résistance tout à fait comparable, et seule une analyse complémentaire minutieuse des phénomènes immunologiques permettrait ultérieurement de dévoiler de façon précise cette différence.

IV - DEUXIEME EXPERIMENTATION - ANNEE 1979

ESSAI D'IMMUNISATION PASSIVE

A - Protocole expérimental

1 - Principe

Cette expérimentation a pour but d'essayer de réaliser un transfert passif d'immunité anti-babésienne à partir de chiens immunisés sur des chiens jusque là indemnes de babésiose mais néanmoins parfaitement réceptifs à cette affection.

Nous utiliserons comme chien donneur le chien Im O utilisé dans l'expérimentation n°I qui a fait l'objet d'une infection expérimentale sans chimio-prévention, fortement immunigène, et qui a été sacrifié au terme de l'expérimentation n° I.

Dans le but de mettre en évidence la nature humorale, cellulaire ou mixte de l'immunité anti-babésienne, nous essaierons de provoquer un transfert d'immunité au moyen de différents liquides biologiques prélevés soit au cours de la première expérimentation soit lors de l'autopsie du chien Im O (plasma, sérum, extrait ganglionnaire, liquide d'ascite expérimentale).

Nous éprouverons dans un second temps l'immunité acquise par ces chiens en pratiquant sur ces mêmes animaux une réinfection environ cinq semaines plus tard au moyen de la même souche de *Babesia*.

2 - Moyens d'appréciation de l'évolution de l'expérimentation

Nous utilisons pour cette deuxième expérimentation les mêmes critères que lors de la première, aussi bien en ce qui concerne la surveillance clinique des animaux que l'appréciation de leur degré d'immunité : nous disposons donc là encore de moyens qualitatifs et quantitatifs.

3 - Matériel

a - Animaux

* Critères de sélection : ce sont les mêmes que dans la première expérimentation.

Les chiens sélectionnés pour cette étude sont également fournis par l'I.F.F.A. : il s'agit de cinq chiens de race beagle, d'un an environ, se répartissant au hasard en trois mâles et deux femelles, étant bien entendu que nous ne tiendrons pas compte, lors de la mise en place du protocole expérimental, du facteur "sexe", étant donné d'une part le nombre restreint d'animaux dont nous disposons, d'autre part l'intérêt minime que peut avoir à nos yeux un tel facteur.

b - Souche de Babesia

Elle nous est adressée par l'I.F.F.A., le matin même de l'expérimentation, prélevée dans les mêmes conditions que dans l'expérimentation n°I, sur un chien préalablement infecté et se trouvant en phase de parasitémie maximale. La souche infectante parvient à l'Ecole Vétérinaire sous forme de sang frais contenu dans une ampoule scellée : il s'agit de la même souche que celle que nous avons utilisée dans la première expérimentation.

c - Matériel d'infection

Nous utilisons la encore un matériel classique d'injection intra-veineuse.

d - Produits biologiques de protection

Ils sont au nombre de quatre : sérum, plasma, liquide d'ascite et nœuds lymphatiques.

- Sérum et plasma ont pour but de mettre en évidence une immunité à médiation humorale
- Liquide d'ascite et nœuds lymphatiques ont pour but de mettre en évidence une immunité à médiation cellulaire.

Le chien Im O ayant contracté lors de la première expérimentation une babésiose clinique et fortement immunigène (immunité naturelle), c'est sur cet animal que seront réalisés les différents prélèvements de produits biologiques nécessaires à cette étude.

* Plasma et sérum :

ils proviennent du chien Im O et sont la résultante de trois prélèvements réalisés à trois dates différentes s'étalant entre quinze jours et un mois après la réinfection de l'animal : nous avons choisi ces prélèvements en estimant qu'ils devaient correspondre à une période où le sang était le plus riche en anticorps.

* Nœuds lymphatiques :

ce sont également ceux du chien Im O : ils ont été prélevés lors de l'autopsie parmi les nœuds lymphatiques les plus réactionnels et ont été congelés immédiatement après dans le but de les conserver : quelques jours avant la date de protection au moyen de ces différents extraits, ces nœuds lymphatiques sont décongelés puis coupés en morceaux de façon stérile au moyen de ciseaux puis broyés toujours stérilement à l'aide d'un broyeur de type "Biorex" quatre fois de suite dans du sérum physiologique.

Nous obtenons finalement à l'état décongelé un liquide de couleur jaune brunâtre, d'aspect crémeux très riche en lymphocytes.

* Liquide d'ascite :

il provient lui aussi du chien Im O qui a fait l'objet de la réalisation d'une ascite expérimentale par injection intra-péritonéale de 10 ml d'essence de térébentine de façon à provoquer à ce niveau un afflux de macrophages péritonéaux. Le liquide d'ascite que nous utilisons pour l'essai de protection résulte de la collecte de deux ponctions abdominales réalisées à quelques jours d'intervalle après injection du produit phlogogène.

Une numération cellulaire réalisée au moyen de la cellule de Malassez après une dilution au 1/100 donne un chiffre final de 119 000 cellules/mm³.

Nous réalisons également une coloration au May-Grünwald-Giemsa de façon à pouvoir effectuer une cytologie de contrôle.

4 - Protocole expérimental

Les cinq chiens sont d'emblée utilisés dans cette étude.

Nous réalisons, à Jo, l'essai de protection par les différents liquides biologiques :

- un premier chien reçoit, en injection sous-cutanée, le plasma du chien Im O : c'est le chien Po.
- un deuxième reçoit, en injection sous-cutanée, de l'extrait ganglionnaire, du chien Im O : c'est le chien Go.
- un troisième reçoit, en injection sous-cutanée, du liquide d'ascite du chien Im O : c'est le chien Ao.
- un quatrième reçoit, en injection sous-cutanée, de l'extrait ganglionnaire et du sérum du chien ImO c'est le chien GSo.
- le dernier enfin ne reçoit aucun traitement : c'est le chien témoin, T.

Le lendemain, ces mêmes chiens sont infectés expérimentalement et simultanément par la même dose de la même souche de *Babesia*

5 - Expérimentation proprement dite

* Protection

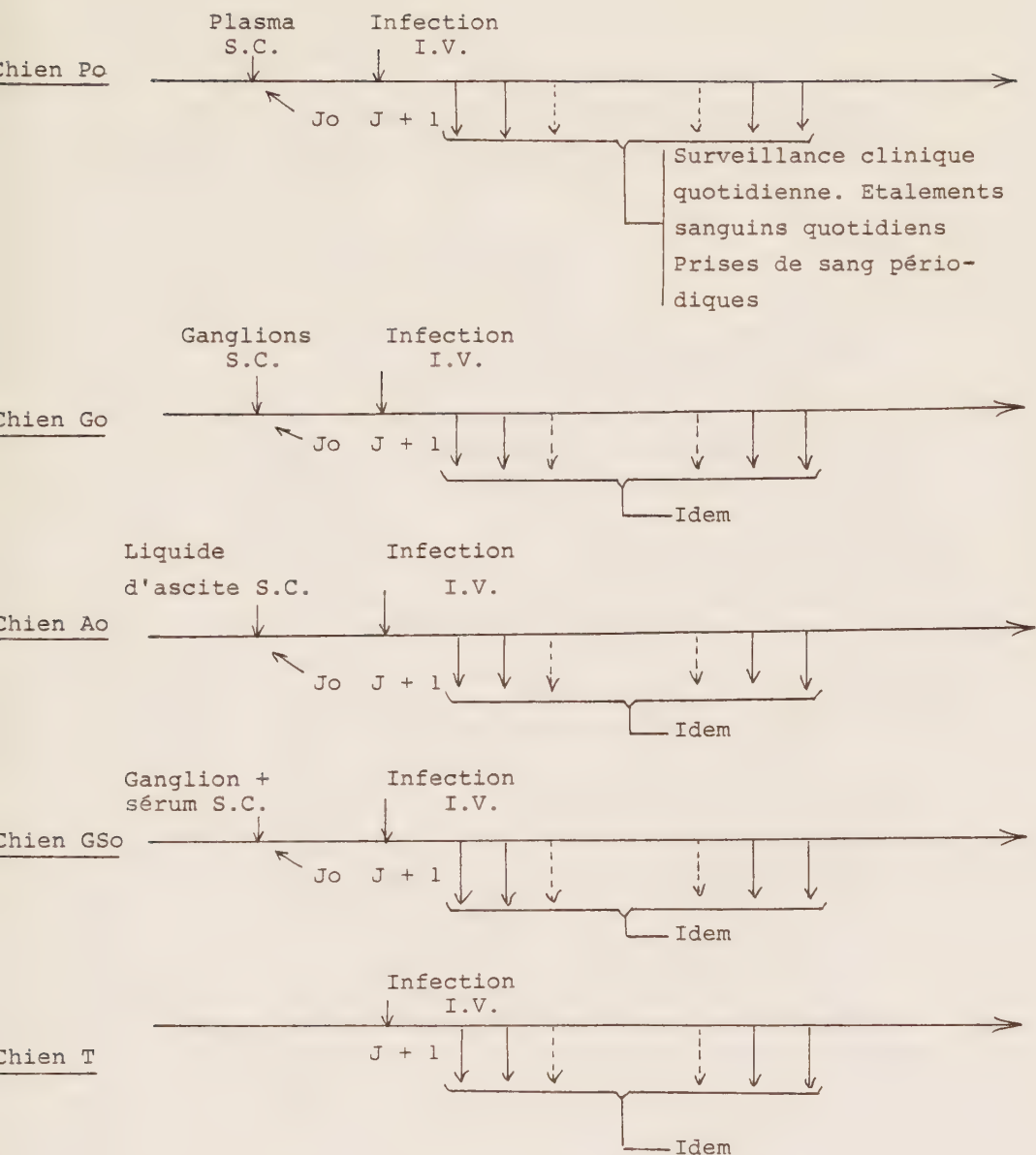
- le chien Po reçoit 6,5 cm³ de plasma auxquels sont ajoutées trois gouttes de chloramphénicol dans le but d'éviter de provoquer un phénomène infectieux au point d'inoculation.

- le chien Go reçoit 10 cm^3 de broyat ganglionnaire additionnés de trois gouttes de chloramphénicol.
- le chien Ao reçoit 10 cm^3 de liquide d'ascite additionnés de trois gouttes de chloramphénicol.
- le chien GSo reçoit 10 cm^3 d'extrait ganglionnaire additionnés de 4 cm^3 de sérum du chien Im O et de trois gouttes de chloramphénicol.

* Infection

A J + 1, chaque chien est infecté par 4 ml de la souche infectante provenant de l'I.F.F.A. injectée par voie intraveineuse dans la veine radiale.

Au cours des semaines suivantes, les animaux font l'objet de soins quotidiens (surveillance clinique, étalements sanguins) ou périodiques (prises de sang).



PROTOCOLE EXPERIMENTAL DE L'EXPERIMENTATION n° II

B - Résultats

Nous avons enregistré dans cette expérimentation les mêmes paramètres que dans l'expérimentation précédente.

1 - Evolution clinique

* Chien Po

- les quatre premiers jours suivant l'infection, l'état général de l'animal reste normal.
- dès J + 5, ce chien, bien que demeurant encore très vif, présente des muqueuses buccale et oculaire caractéristiques d'un état d'anémie discret.
- le lendemain, à J + 6, il est beaucoup moins dynamique que la veille et a perdu appétit, mais les urines ont conservé une teinte normale.
- à J + 8, son état général s'améliore : il est plus vif et a plus d'appétit que la veille ; l'anémie a régressé.
- pourtant, à J + 9, il semble à nouveau affaibli, présentant encore un état d'anémie discret ; l'état général de cet animal semble stationnaire les jours suivants.
- à J + 14, on observe en plus l'apparition d'un subictère au niveau des muqueuses.
- dès J + 15 pourtant, l'animal apparaît plus vif que la veille, le caractère ictérique des muqueuses semble avoir déjà régressé.
- les jours suivants, l'animal a pratiquement retrouvé une condition physique identique à celle qu'il avait avant l'infection.

* Chien_Go :

- satisfaisant les trois premiers jours suivant l'infection, l'état général de l'animal se dégrade dès J + 4 avec, comme seuls symptômes, adynamie et anorexie.
- à J + 5, un état d'anémie discrète vient se surajouter au tableau clinique de la veille.
- dès J + 8, l'état général du chien s'améliore avec notamment disparition du caractère anémique des muqueuses.
- à J + 20, l'animal a retrouvé la condition physique qu'il avait avant l'infection.

* Chien_Ao :

- pendant les trois premiers jours suivant l'infection, le chien ne semble pas affecté par la présence du parasite en son organisme.
- dès J + 4, il présente de l'adynamie, des muqueuses anémiées et des difficultés respiratoires (polypnée, discordance).
- à J + 5, l'état général est un peu meilleur que la veille : l'état polypnéique est moins accusé ; les muqueuses laissent néanmoins transparaître, sur un fond de congestion, un léger ictère et les urines sont déjà foncées.
- les jours suivants, l'état général de l'animal reste stationnaire : prostration, anémie, ictère, anorexie.
- à partir de J + 15, l'abattement est déjà moins intense, l'anémie et l'ictère ont légèrement régressé.

Ce chien a néanmoins conservé de graves séquelles de cette infection expérimentale au cours des mois suivants (apathie, maigreur, appétit moyen, anémie chronique).

* Chien_GSo :

- présentant un état général tout à fait satisfaisant durant les trois premiers jours, le chien paraît très abattu dès J + 4 avec des muqueuses anémiées et une respiration difficile (polypnée).
- à partir de J + 5, un léger ictère vient se surajouter à l'anémie ; les urines ont une teinte plus foncée.
- dès J + 6, le chien est dans un état de prostration intense.
- cet état est stationnaire jusqu'à environ J + 20, date à laquelle les caractères à la fois anémique et ictérique des muqueuses ont bien diminué, bien qu'encore apparents.
- d'ailleurs, ce chien, comme le chien Ao, n'a jamais retrouvé la condition physique qu'il avait avant l'expérimentation.

* Chien_T :

- inchangé pendant les trois jours suivant l'infection expérimentale, l'état général de cet animal apparaît légèrement altéré à J + 4 (légère adynamie, appétit moyen).
- cet état se maintient au cours des jours suivants jusqu'à J + 10.
- à J + 11, l'animal est plus abattu que les jours précédents, ses muqueuses sont anémiées.
- à J + 15, l'adynamie de l'animal et l'anémie de ses muqueuses sont maximales, puisque, dès J + 16, le chien va déjà mieux.
- à partir de J + 17 et au cours des semaines suivantes, ce chien semble tout à fait rétabli.

2 - Evolution thermique

* Chien Po :

L'examen de la courbe thermique révèle, à J + 4 un pic d'hyperthermie à 40,4°C suivi, après un retour à des valeurs normales, d'un deuxième pic à 40,1°C à J + 9 : on observe, après une baisse rapide de la température les jours suivants, un troisième pic d'hyperthermie à J + 16 à 40,1°C également. La courbe thermique redécrit ensuite des valeurs physiologiques.

* Chien Go :

on observe, dès J + 3, une élévation de la température rectale aboutissant à J + 4 à un pic thermique de 40,8°C ; dès le lendemain, la courbe thermique décrit une chute pour redécrire à nouveau, à J + 10, un pic à 39,8°C, inférieur au précédent, avant de reprendre et de conserver des valeurs normales.

* Chien Ao :

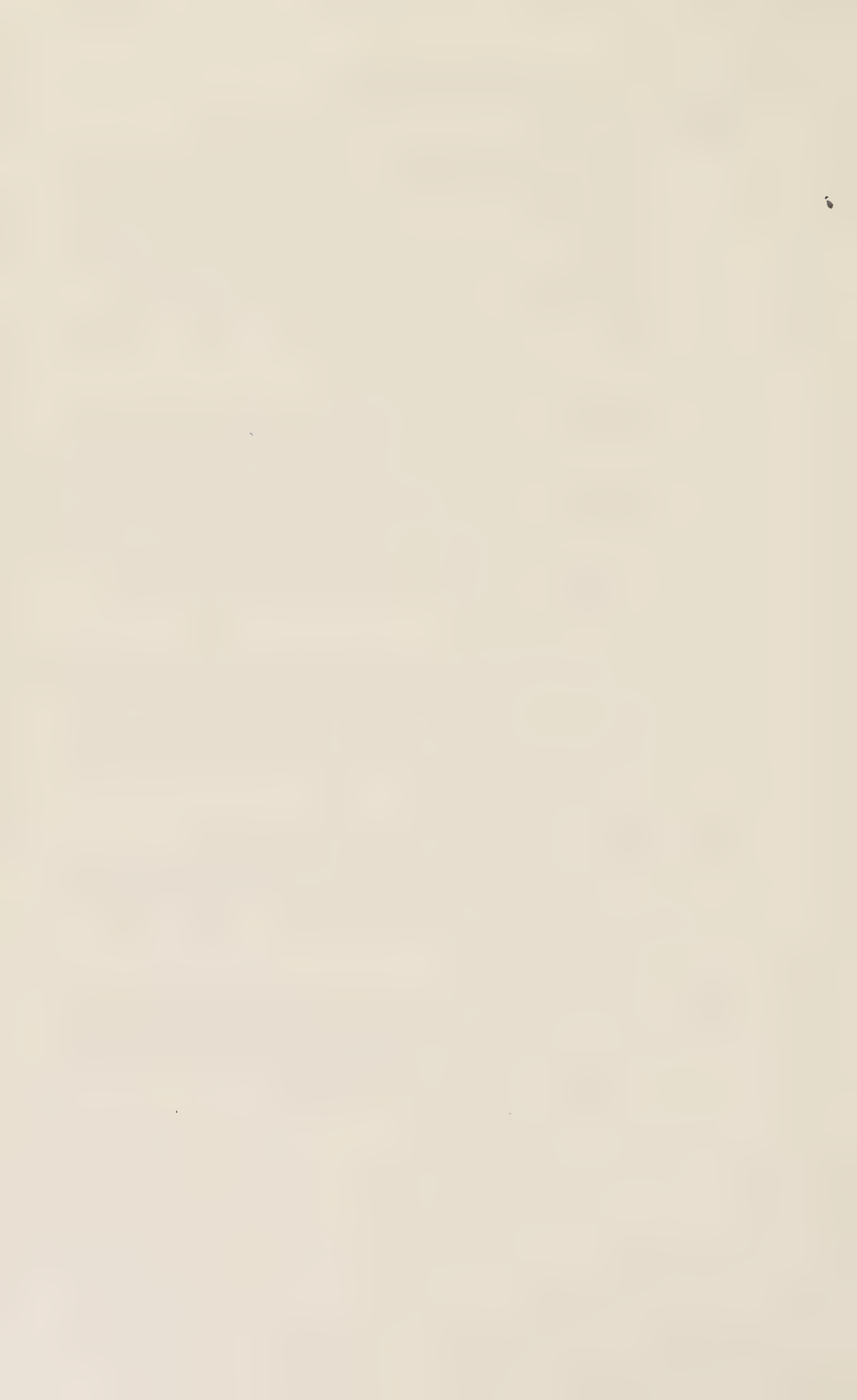
l'examen de la courbe thermique montre, à J + 3, un pic d'hyperthermie à 40,4°C, puis, après un retour à la normale au cours des jours suivants, un deuxième pic à 39,7°C à J + 10 et enfin un troisième à 39,6°C à J + 16.

* Chien GSo :

l'examen de la courbe thermique révèle, à J + 3, un pic à 40,4°C suivi d'un second pic thermique à 40°C à J + 9 puis d'un retour à des valeurs physiologiques.

* Chien T :

normale les trois premiers jours suivant l'infection, la courbe thermique décrit à J + 4 un pic à 40,3 °C, puis un deuxième à 39,7°C à J + 10 et un troisième à 40°C à J + 16.



3 - Evolution du taux d'infestation babésienne

* Chien_Po :

négatifs les deux premiers jours suivant l'infection, les étalements sanguins apparaissent positifs à J + 4 pour donner à J + 5 un pic parasitaire à 14 champs positifs sur 20 ; après une baisse brutale et importante, la parasitémie montre à nouveau, à J + 10, un pic très inférieur au précédent avec 7 champs positifs sur 20. Un troisième pic parasitaire très faible (3 champs positifs sur 20) apparaît à J + 16, puis la parasitémie s'annule définitivement.

* Chien_Go :

les étalements sanguins n'apparaissent positifs qu'à J + 4 pour donner à J + 5 un pic de parasitémie à 19 champs positifs sur 20 ; après une diminution brutale et assez importante, la parasitémie décrit un deuxième pic inférieur au précédent à 9 champs positifs sur 20 à J + 10, après lequel elle devient définitivement nulle.

* Chien_Ao :

positifs à partir de J + 3, les étalements sanguins montrent un premier pic parasitaire à J + 4 de 20 champs positifs sur 20 ; la parasitémie s'annule ensuite de J + 6 à J + 9 et un second pic apparaît à J + 10, plus petit que le premier avec 3 champs positifs sur 20. Quelques jours après, les étalements deviennent négatifs.

* Chien_GSo :

positifs également à partir de J + 3, les étalements sanguins mettent en évidence un premier pic parasitaire à J + 4 avec 20 champs positifs sur 20 ; la parasitémie s'annule ensuite de J + 6 à J + 8 et il apparaît à J + 10 un deuxième pic parasitaire à 7 champs positifs sur 20, après lequel la parasitémie diminue et finit par s'annuler définitivement.

* Chien_T :

les étalements sanguins réalisés sur ce chien apparaissent positifs à partir de J + 4 : la courbe d'infestation parasitaire décrit un pic à J + 5 (18 champs positifs sur 20) puis, après une nette et brutale diminution de la parasitémie, un second pic parasitaire de même taille que le premier à J + 10, puis la parasitémie s'annule.

4 - Evolution de la formule sanguine

* Chien_Po :

- l'examen de la courbe lymphocytaire montre que la lymphocytémie augmente rapidement après l'infection pour donner à J + 7 un pic à 52% puis diminue aussitôt pour reprendre des valeurs physiologiques.
- les variations de la courbe d'évolution monocytaire sont très semblables à celles de la courbe d'évolution lymphocytaire avec néanmoins une amplitude inférieure.

* Chien_Go :

- il apparaît à J + 10 un pic lymphocytaire à 66% puis l'animal reprend une lymphocytémie normale.
- l'examen de la courbe monocytaire révèle également l'existence d'un pic monocytaire dont le sommet, atteint à J + 6, correspond à une monocytémie de 29%.

* Chien_Ao :

- la courbe lymphocytaire décrit un pic très précoce puisque survenant à J + 6 mais d'amplitude moyenne (42%). Il est à remarquer que le taux de lymphocytes conserve pendant longtemps des valeurs supérieures à la normale.
- l'évolution de la courbe lymphocytaire semble véritablement calquée sur la précédente, présentant un pic de valeur à J + 7 de 40%, donc de très grande amplitude.

* Chien_GSo :

- l'examen de la courbe lymphocytaire montre l'apparition, à J + 4, d'un pic de hauteur moyenne (46%) assez rapidement suivi d'un retour à des valeurs physiologiques.
- il apparaît également, à J + 5, un pic monocytaire assez élevé (31%) de durée très brève et suivi, une dizaine de jours plus tard, d'un second pic de hauteur beaucoup plus faible.

* Chien_T :

- normale pendant les quatre premiers jours, la lymphocytémie s'accroît à partir de J + 5 pour former un pic de valeurs dont le sommet se situe à J + 7; le taux de lymphocytes reste néanmoins élevé au cours des semaines suivantes.
- l'évolution monocytaire est strictement parallèle à l'évolution lymphocytaire avec également un pic à 33% à J + 7.

5 - Evolution de la sérologie anti-babésienne

La comparaison des courbes représentant, pour chaque chien, l'évolution du taux d'anticorps sériques détectés par la réaction de fixation du complément montre :

- que c'est le chien Po qui a présenté des titres sériques les moins importants et les plus tardifs suite à l'infection.
- que les chiens Ao et GSo ont présenté des titres sériques beaucoup plus importants et aussi plus précocement.
- que le chien Go a présenté des titres sériques intermédiaires en intensité et en délai d'apparition entre le chien Po d'une part et les chiens Ao et GSo d'autre part.
- et enfin que le chien T, témoin d'infection, a présenté une montée d'anticorps voisine en rapidité et en intensité de celle du chien Go mais atteignant finalement de façon tardive des titres sériques aussi importants que ceux des chiens Ao et GSo.

6 - Réinfection

La réinfection des chiens T, Po, Go, GSo, Ao par une souche homologue, environ cinq semaines plus tard, a montré l'immunisation de ces animaux vis-à-vis de cette souche, sur le plan clinique : aucun chien n'a présenté en effet de modification de l'état général rattachable à une babésiose clinique.

Chiens	Traitement	Altération de l'état général	Parasitémie	Lymphocytes	Immunité (f_c) humorale	Observations
Po	Plasma	tardive +++	1° pic +++ 2° pic ++	J + 7 52%	faible et tardive	Protection de courte durée
Go	Extrait ganglionnaire	précoce ++	1° pic +++ 2° pic ++	J + 10 66%	d'intensité moyenne et de précocité moyenne	aucune protection
Ao	liquide d'ascite	précoce +++	1° pic +++ 2° pic +	J + 6 42%	importante et précoce	aucune protection
GSo	extrait ganglionnaire + sérum	précoce +++	1° pic +++ 2° pic ++	J + 4 46%	Importante et précoce	aucune protection
T	aucun	très tardive +++	1° pic +++ 2° pic +++	J + 8 41%	Importante mais tardive	babésiose clinique tardive

TABLEAU RECAPITULATIF DE L'EXPERIMENTATION N° II

Etat général

EXPERIMENTATION N° 2

chien P.
G. A. GS.
T

Evolution de l'état général

+++

++

+

1

1.5

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

35

36

37

38

39

40

41

42

43

44

45

46

47

48

49

50

51

52

53

54

55

56

57

58

59

60

61

62

63

64

65

66

67

68

69

70

71

72

73

74

75

76

77

78

79

80

81

82

83

84

85

86

87

88

89

90

91

92

93

94

95

96

97

98

99

100

101

102

103

104

105

106

107

108

109

110

111

112

113

114

115

116

117

118

119

120

121

122

123

124

125

126

127

128

129

130

131

132

133

134

135

136

137

138

139

140

141

142

143

144

145

146

147

148

149

150

151

152

153

154

155

156

157

158

159

160

161

162

163

164

165

166

167

168

169

170

171

172

173

174

175

176

177

178

179

180

181

182

183

184

185

186

187

188

189

190

191

192

193

194

195

196

197

198

199

200

201

202

203

204

205

206

207

208

209

210

211

212

213

214

215

216

217

218

219

220

221

222

223

224

225

226

227

228

229

230

231

232

233

234

235

236

237

238

239

240

241

242

243

244

245

246

247

248

249

250

251

252

253

254

255

256

257

258

259

260

261

262

263

264

265

266

267

268

269

270

271

272

273

274

275

276

277

278

279

280

281

282

283

284

285

286

287

288

289

290

291

292

293

294

295

296

297

298

299

300

301

302

303

304

305

306

307

308

309

310

311

312

313

314

315

316

317

318

319

320

321

322

323

324

325

326

327

328

329

330

331

332

333

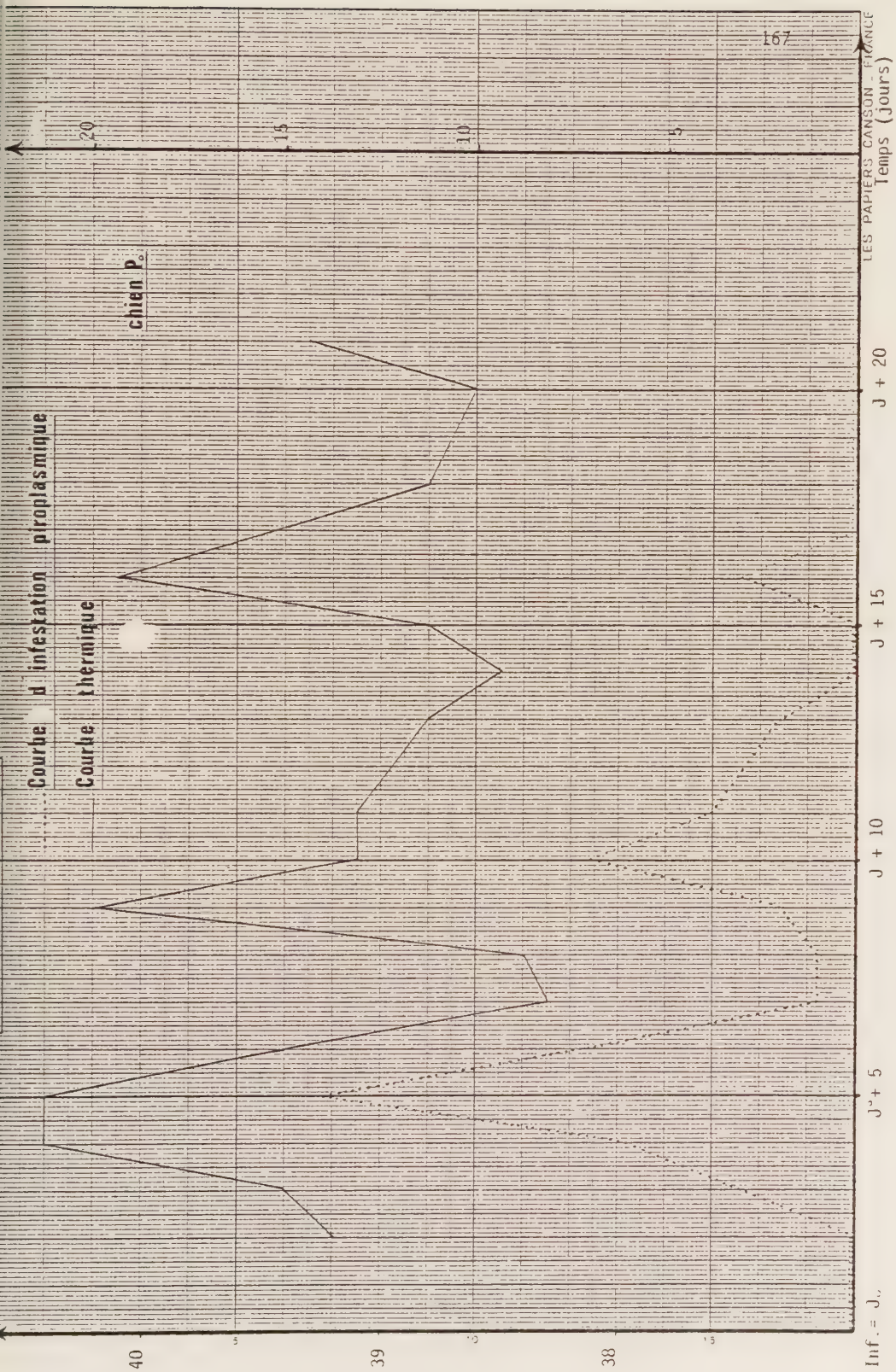
334

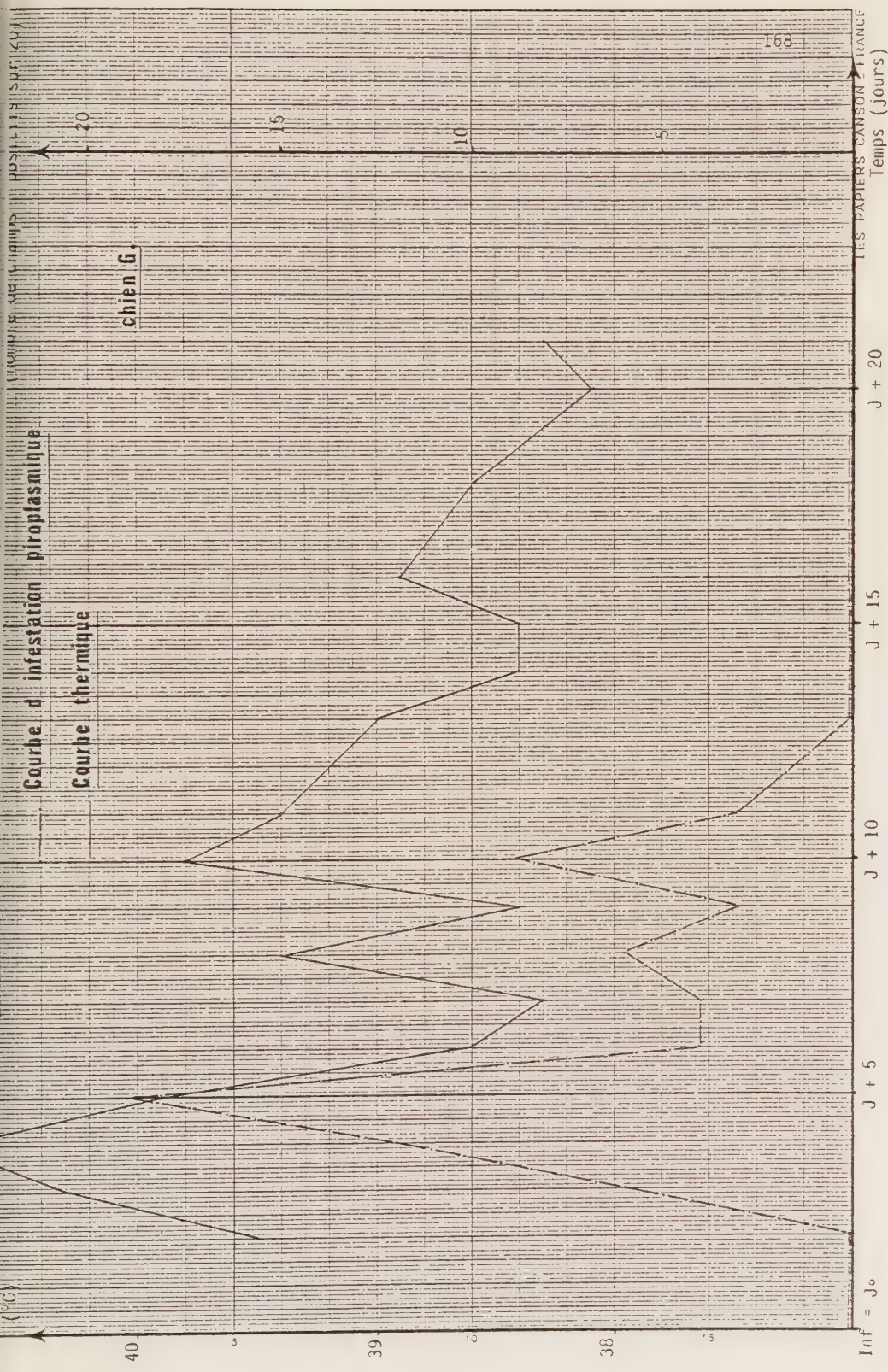
335

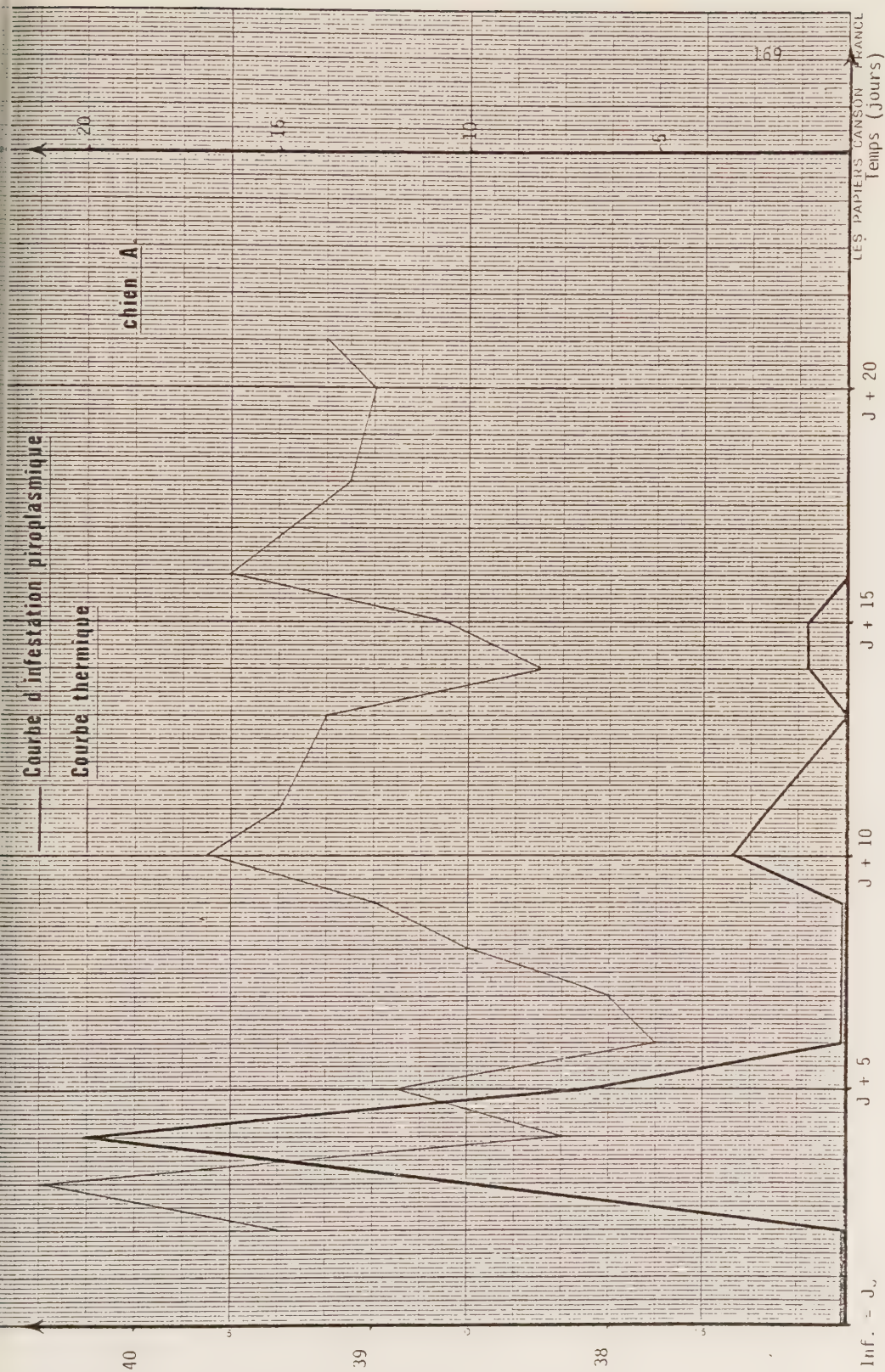
336

337

338







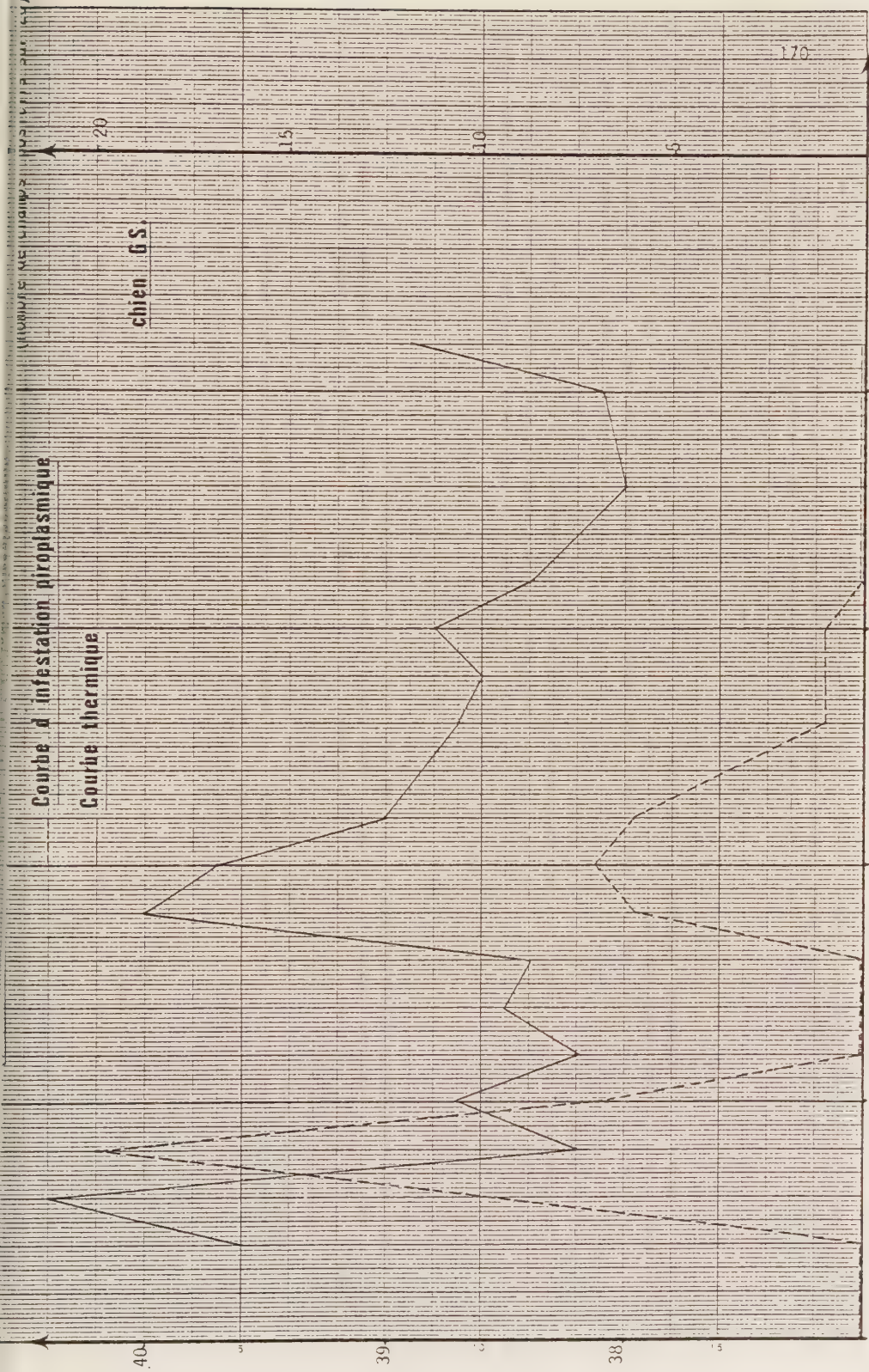
Courbe d'infestation piropasmiq

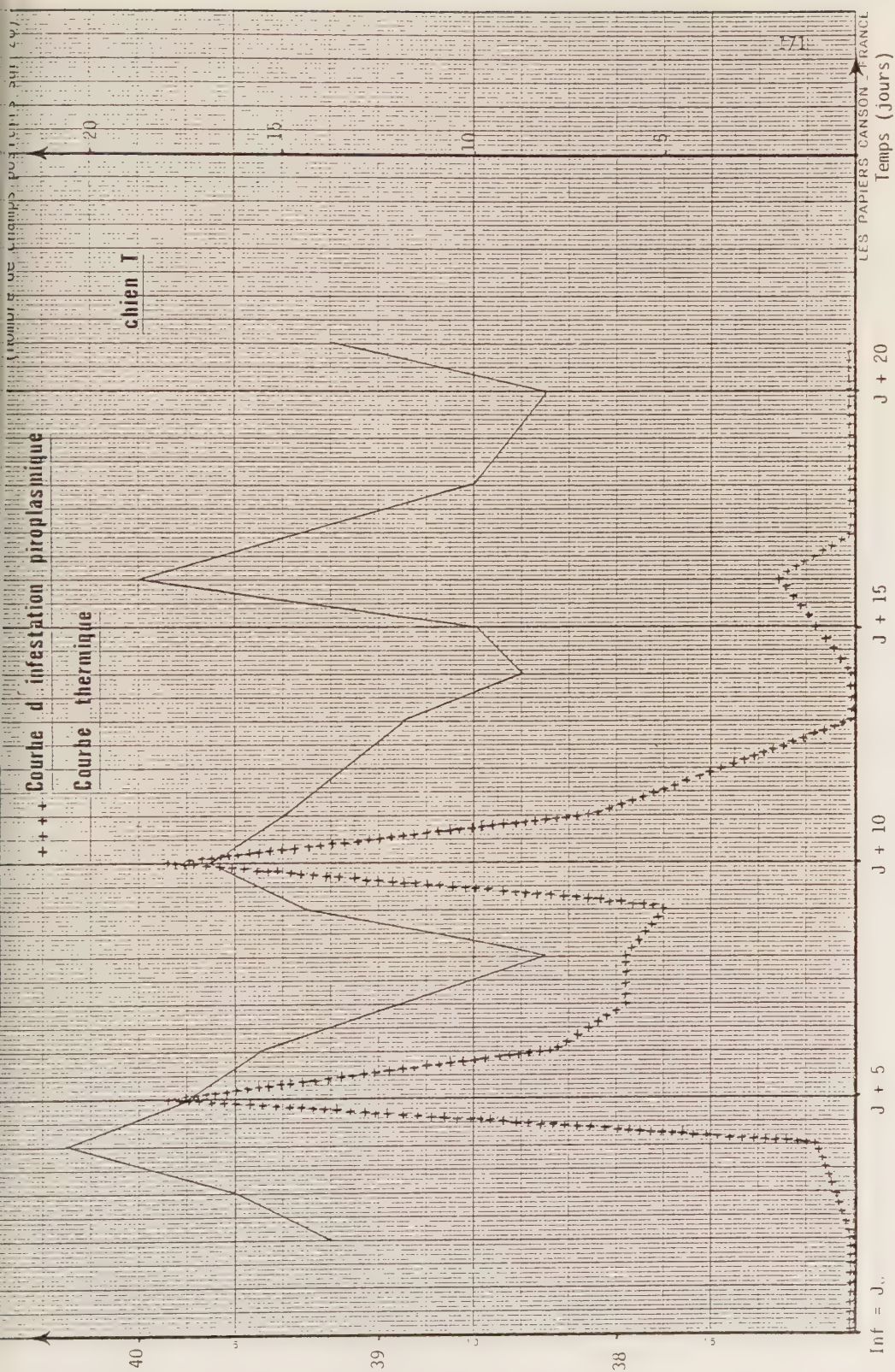
Courbe thermique

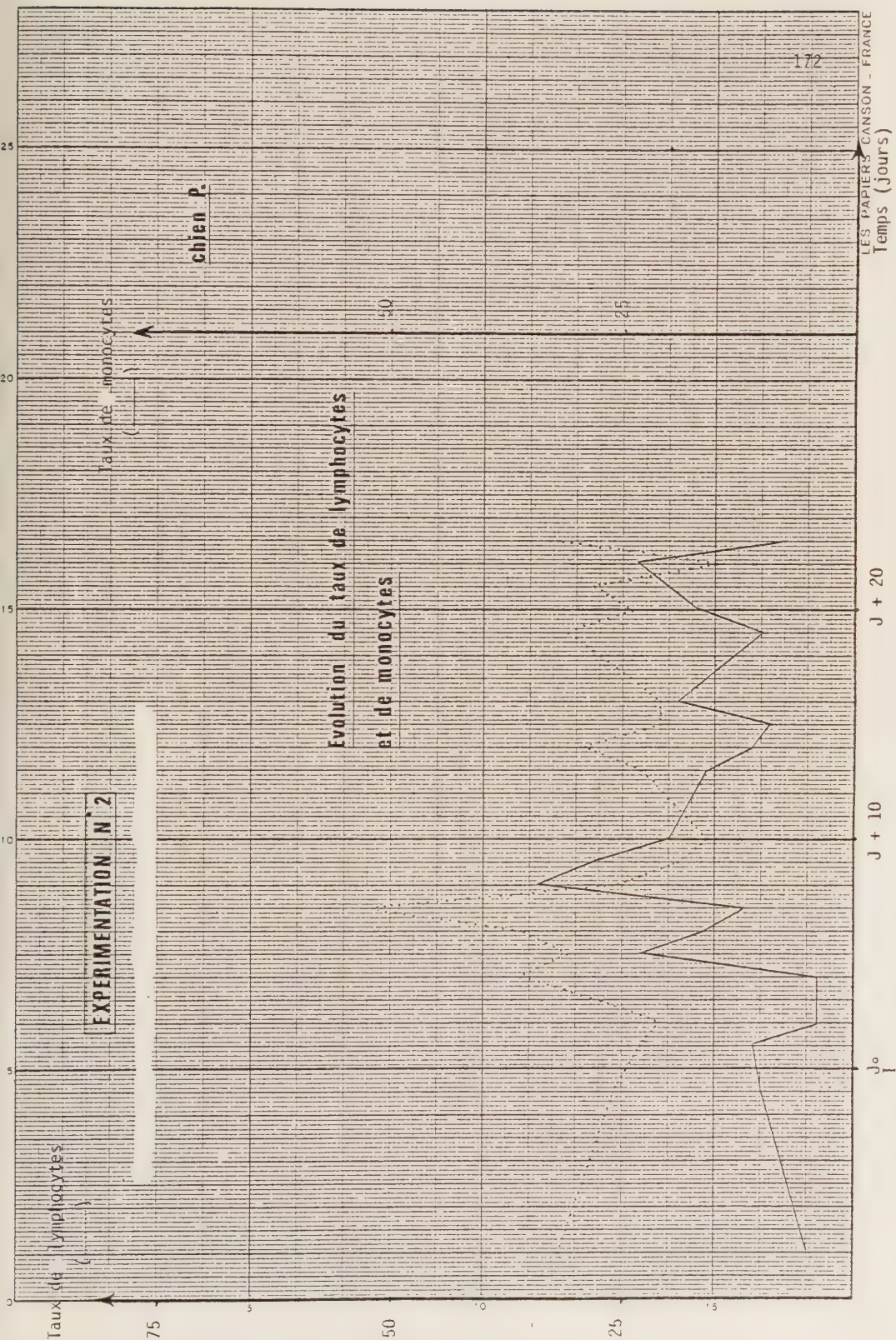
chien G.S.

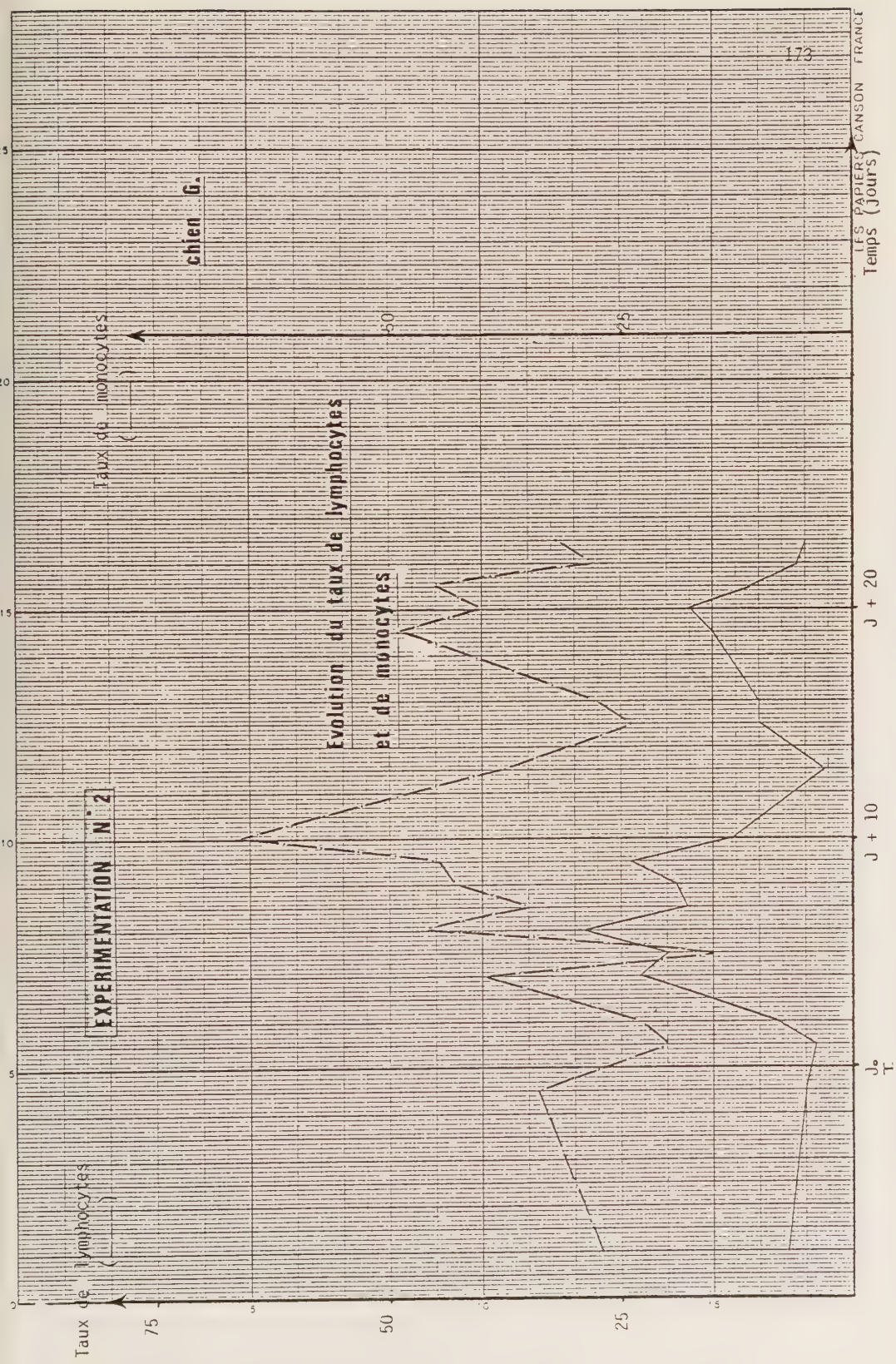
170

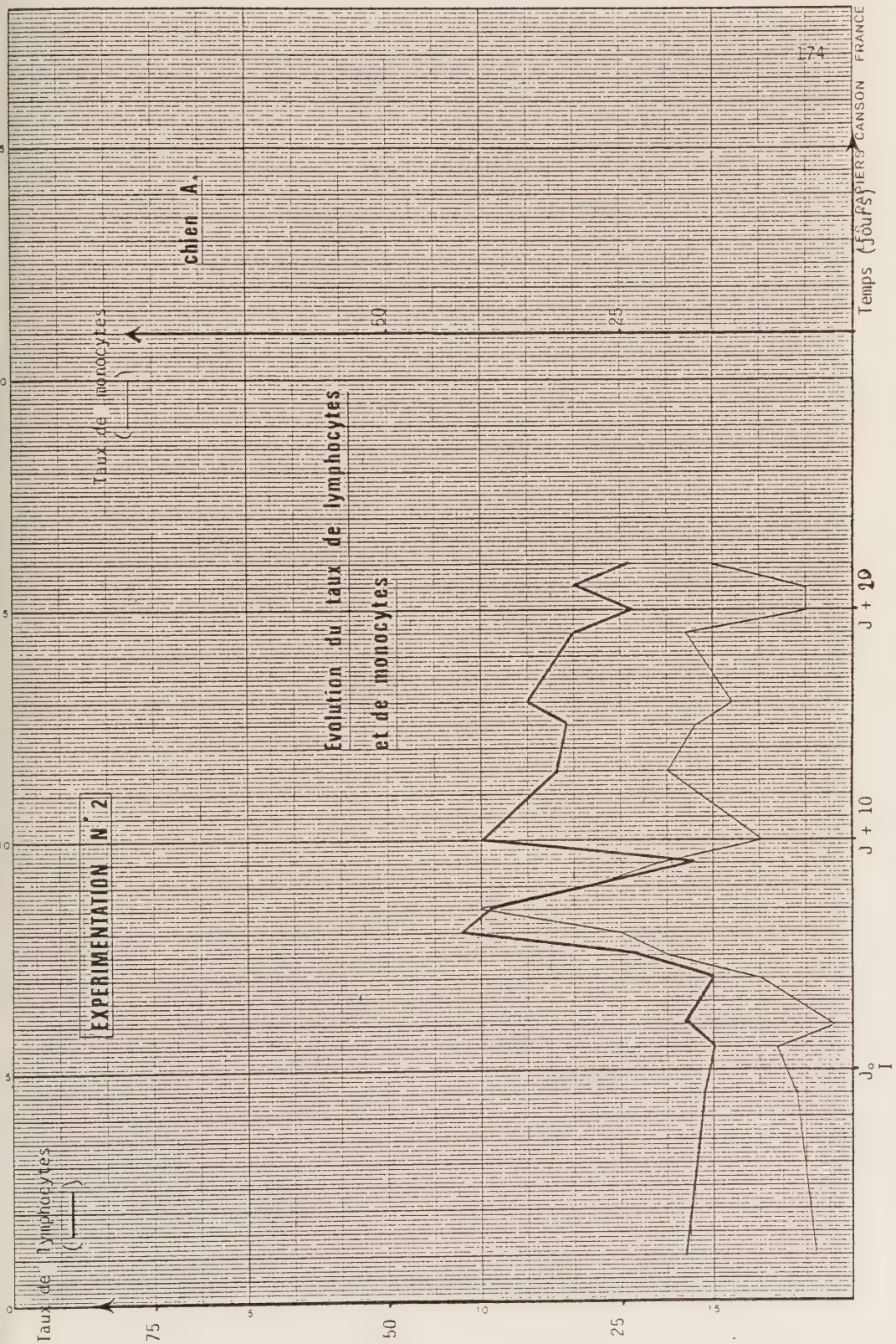
LES PAPIERS CANSON FRANCE
Temps (jours)











EXPERIMENTATION N° 2

Taux de lymphocytes

Taux de monocytes

chien GS.

Evolution du taux de lymphocytes et de monocytes

LES PAPIERS CANSON - FRANCE

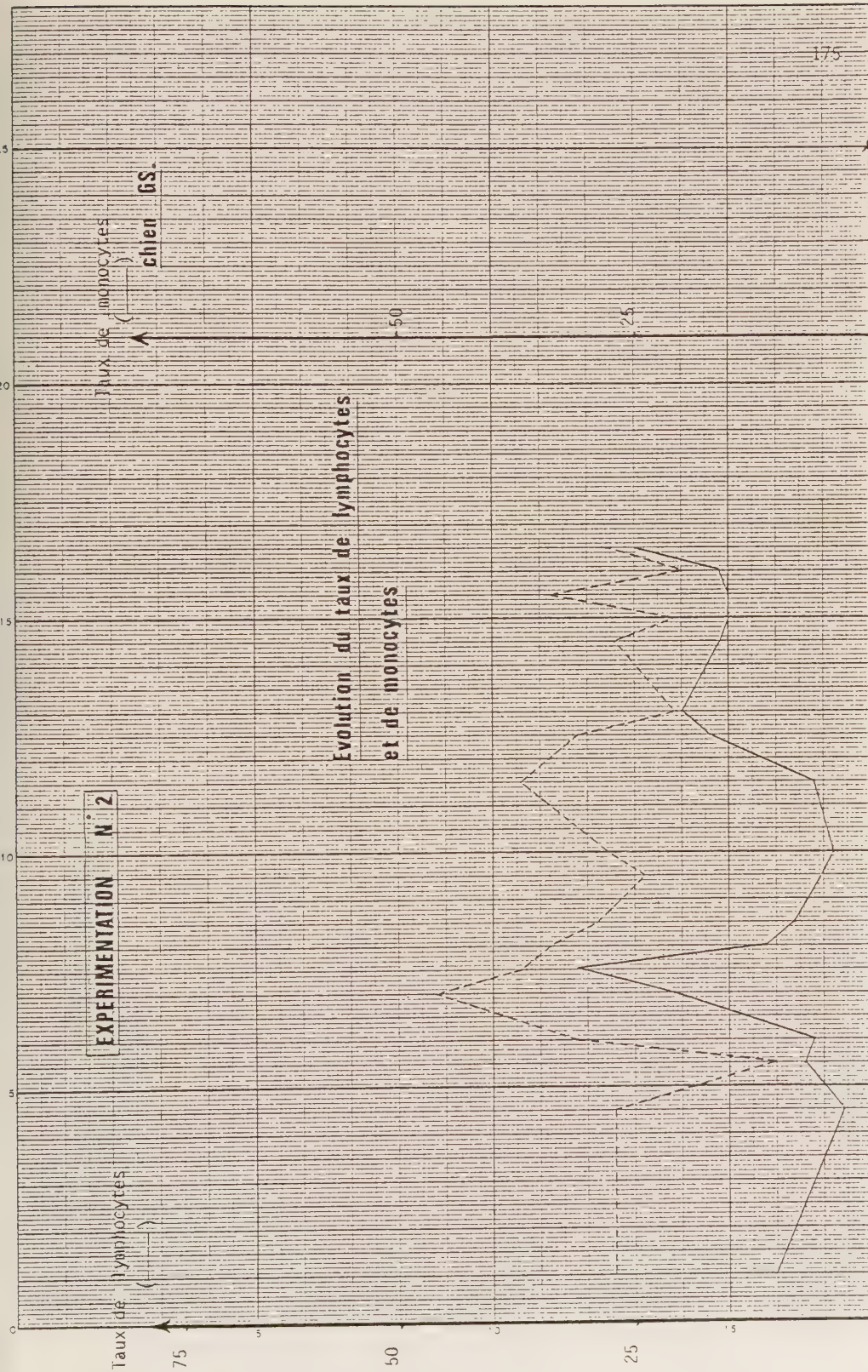
J + 20

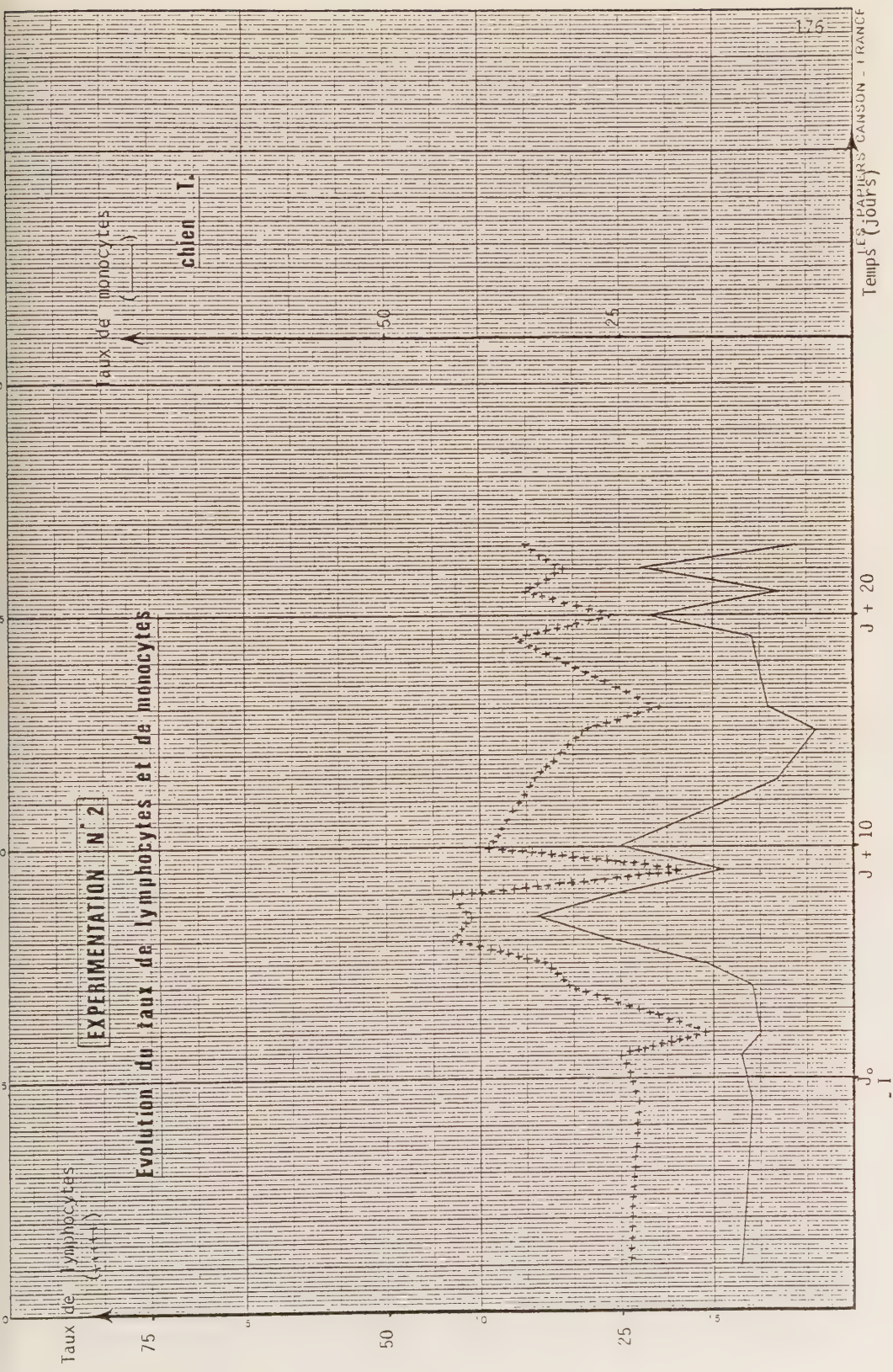
J + 10

J⁰

I

Temps (jours)

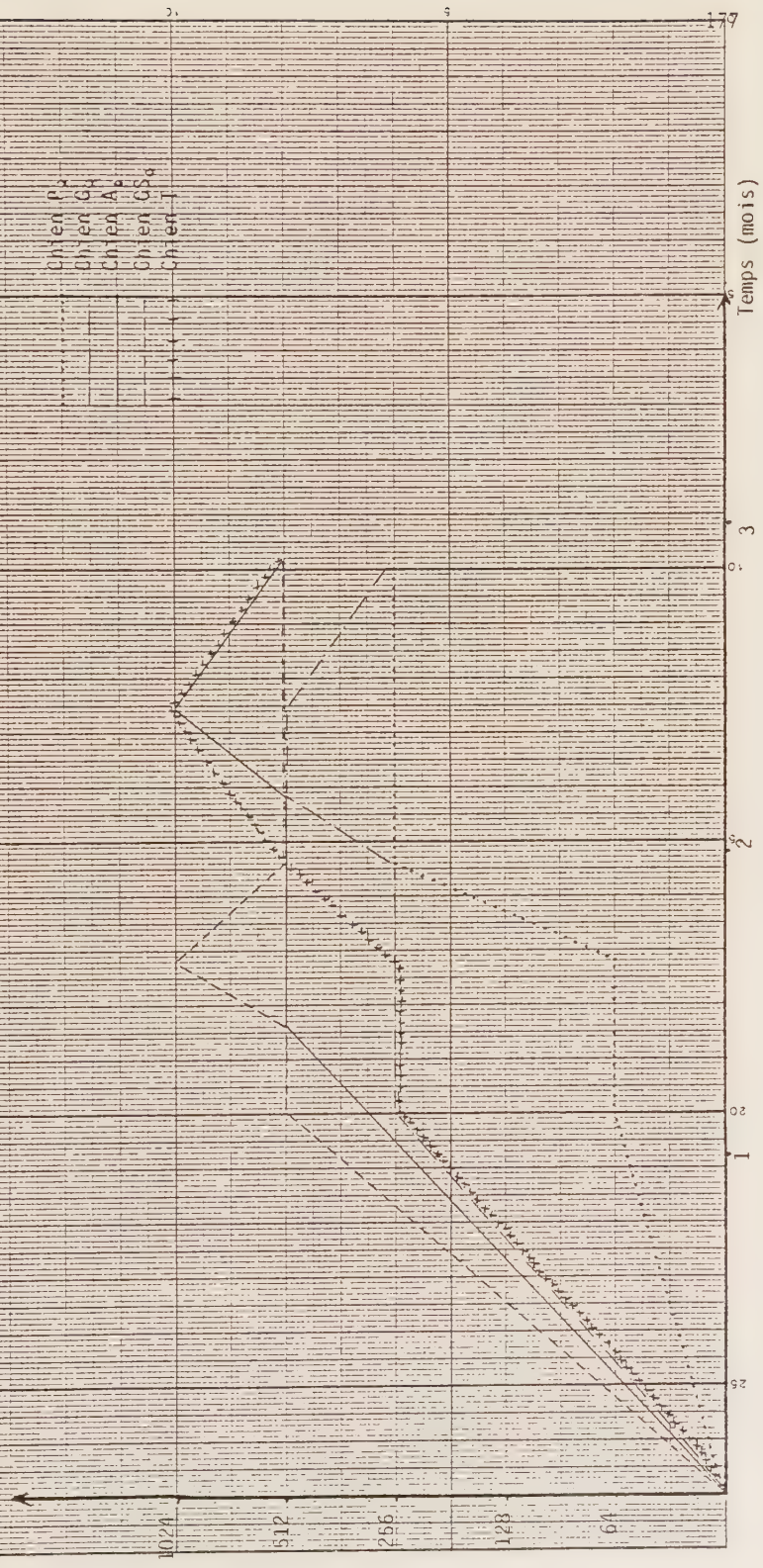




EXPERIMENTATION N° 2

Evolution de la sérologie anti-habésienne (Fc)

titres sériques (dilution d'anticorps)



C - Discussion

Ce paragraphe a pour but de donner une interprétation, claire dans la mesure du possible, des résultats des différents paramètres enregistrés lors de cette expérimentation et recueillis dans le paragraphe précédent.

* Chien_Po :
cet animal a présenté, suite à l'infection, des modifications certaines de l'état général mais néanmoins tardives et peu sévères, comparées à celles des autres chiens ; l'examen de la courbe thermique révèle pourtant l'existence d'une période d'hyperthermie précoce ; la parasitémie s'est aussi avérée précoce mais plus faible que celle des autres chiens. Enfin, les modifications des taux de lymphocytes et de monocytes témoignent également de la réaction de l'organisme face à la prise d'infection.

Le chien Po a donc contracté une babésiose clinique peu sévère et tardive, comme si les anticorps reçus la veille de l'infection avaient transitoirement inhibé la multiplication parasitaire, laissant à l'organisme hôte le temps de s'immuniser au moins partiellement.

* Chien_Go :
cet animal a contracté une babésiose clinique plus sévère que le précédent, caractérisée par une modification plus rapide de son état général mais néanmoins d'intensité moyenne, un clocher thermique plus élevé, une parasitémie plus importante et surtout une très forte réaction lymphocytaire.

* Chien_Ao :
cet animal a développé une babésiose clinique particulièrement grave avec altération précoce et très importante de l'état général accompagnée d'une courbe thermique typique, d'une parasitémie maximale et très fugace caractéristique, et d'une augmentation remarquable du taux de monocytes.

Le chien Ao a donc beaucoup plus ressenti l'infection expérimentale que les chiens Po et Go.

* Chien_GSo :

cet animal a présenté une évolution clinique très comparable en tout point à celle du chien précédent : un clocher fébrile précoce, une parasitémie également précoce et maximale, moins fugace néanmoins que celle du chien Ao ; les variations du taux de monocytes sont, semble-t-il, moins caractéristiques. Il convient donc déjà de remarquer la similitude de comportement des chiens Ao et GSo.

* Chien_T :

contrairement à nos espérances, ce chien n'a développé qu'une babésiose clinique relativement fruste en tant que témoin positif d'infection : ce n'est que très tardivement qu'il a présenté une modification notable de son état général ; pourtant, l'examen de la courbe thermique révèle l'existence d'un clocher thermique précoce caractéristique ; de plus, la parasitémie décrit un premier pic parasitaire tout à fait classique et typique de la babésiose et précoce également : il convient cependant de remarquer que le chien T est le seul qui ait manifesté un second pic parasitaire de même taille que le premier, les autres chiens ayant en effet tous présenté un second pic très nettement inférieur au premier : faut-il voir en ce deuxième pic abortif chez les chiens Po, Go, Ao, GSo le simple fait du hasard ou alors le résultat d'un certain degré d'immunisation ? Il apparaît malheureusement difficile de trancher compte tenu de l'unicité de cette expérimentation, mais il n'est pas exclu néanmoins que la seconde hypothèse soit la bonne.

Par ailleurs, les variations des taux lymphocytaire et monocytaire sont semblables à celles des autres chiens.

Par ailleurs, les variations des taux lymphocytaire et monocytaire sont semblables à celles des autres chiens.

D - Conclusion

Cette deuxième partie de notre travail expérimental, dont le but était d'essayer de réaliser un transfert passif d'immunité en matière de babésiose canine, ne s'est pas avérée aussi intéressante que nous le souhaitions au départ, en ce sens que les résultats obtenus ne nous permettent pas d'apporter des conclusions fermes et définitives sur les questions auxquelles nous nous proposons de répondre : est-il possible de réaliser un transfert passif d'immunité ? et peut-on faire la part de l'immunité à médiation humorale et de l'immunité à médiation cellulaire ?

A l'origine de ces difficultés d'interprétation, il convient de signaler la réaction particulière du chien T, témoin positif d'infection, qui, au lieu de développer une babésiose clinique au moins aussi sévère que les autres chiens, n'a en fait exprimé qu'une forme assez fruste et atypique dans son déroulement puisque l'état général de l'animal ne s'est vraiment trouvé modifié que deux semaines après l'infection (on remarque d'ailleurs, à ce sujet, une profonde discordance entre l'évolution de l'état général traduisant une réaction tardive de l'organisme et les courbes de température, de parasitémie et d'évolution lymphocytaire et monocytaire traduisant au contraire une réaction très précoce de l'organisme à l'infection).

La pathogénicité de la souche ne semble pas pouvoir être incriminée dans la mesure où l'infection des autres chiens a provoqué une évolution tout à fait classique de la maladie.

L'infection expérimentale elle-même nous paraît être hors de cause également dans la mesure où l'injection intra-veineuse s'est déroulée dans de bonnes conditions.

Nous pensons qu'un facteur strictement individuel de résistance physique particulière de ce chien à une agression babésienne permettrait de fournir une explication à son comportement inattendu après infection.

Nous ne considérons cependant pas cette seconde expérimentation comme étant négative à tous points de vue, car elle nous permet néanmoins de tirer de ce travail certaines conclusions :

- les chiens Po, Go, Ao, GSo ont tous exprimé, de façon plus ou moins marquée, une babésiose clinique ; nous n'avons donc jamais eu avec aucun des produits administrés une protection totalement efficace.
- les chiens Ao et GSo ont développé des formes cliniques beaucoup plus sévères que les chiens Po et Go et aussi plus précoces sur le plan de l'altération de l'état général et des pics thermique et de parasitémie.
- le chien Po a développé une babésiose clinique discrète et tardive si l'on s'en tient à l'évolution de l'état général mais beaucoup plus précoce d'après les courbes d'évolution thermique et parasitémique : ce chien a néanmoins présenté une parasitémie plus faible que tous les autres chiens.
- le chien Go a présenté une babésiose clinique d'intensité intermédiaire entre celles des chiens Ao et GSo d'une part et Po d'autre part.
- seul le chien T, témoin positif d'infection, malgré une modification que très tardive de l'état général, a présenté un second pic d'infestation babésienne réellement important puisque de même taille que le premier ; tous les autres chiens ont présenté un second pic d'infestation de faible, voire même très faible amplitude : cette différence notée au niveau des courbes de parasitémie nous semble pouvoir être significative d'une différence de réaction face à l'infection entre les chiens Po, Go, Ao et GSo d'une part et le chien T d'autre part ;

et cette différence pourrait traduire éventuellement de la part des chiens Po, Go, Ao et GSo un certain degré d'immunisation par rapport au chien T.

Faute d'avoir observé, de la part du chien T, le comportement clinique auquel on s'attendait, il apparaît difficile de conclure de façon tranchée sur ce problème.

- parmi les chiens ayant fait l'objet d'un traitement "protecteur" préalable, le chien Po est néanmoins le seul à avoir été cliniquement peu affecté : il nous est donc permis de supposer que ce chien a bénéficié par l'injection de plasma du chien ImO d'un transfert d'immunité humorale le mettant partiellement à l'abri de l'infection babésienne.
- il semble, au contraire, que les chiens ayant bénéficié de l'injection d'extraît ganglionnaire ou de liquide d'ascite du chien Im O n'aient fait l'objet d'aucun transfert d'immunité cellulaire.

Tous les résultats obtenus au terme de cette expérimentation, bien que fruits de la rigueur scientifique, n'en demeurent pas moins que des données ponctuelles réunies dans le cadre d'une expérimentation malheureusement unique, et seule leur reproductibilité à l'occasion d'expérimentations similaires à venir apportera des enseignements statistiquement intéressants sur ce délicat problème de la nature intime des phénomènes immunitaires en matière de babésiose canine et celui des possibilités de transfert expérimental de l'immunité.

C O N C L U S I O N S G E N E R A L E S

1 - Une première partie, bibliographique, nous a d'abord permis de confirmer le parasite dans sa situation taxonomique classique au sein de la famille des Babésiidés, à l'intérieur de la classe des *Piroplasma*sida.

2 - L'étude épidémiologique des affections babésiennes nous a conduit à considérer les babésioses animales comme des maladies régionales, enzootiques (épizootiquesseulement en foyers) à incidence saisonnière et à transmission vectorielle, dont l'importance, tant économique que médicale, peut être considérable lorsque se trouvent réunis les différents facteurs extrinsèques ou intrinsèques à l'animal favorisant la réceptivité de ces animaux.

3 - Il ressort de l'étude clinique que la symptomatologie des babésioses a tendance à apparaître de plus en plus polymorphe, rendant parfois difficile le diagnostic clinique.

Pour cette raison, la réalisation parle praticien d'étalements sanguins sur les animaux suspects constitue souvent le seul diagnostic de certitude.

4 - Un chapitre particulier, consacré aux phénomènes immunologiques inhérents aux babésioses, a néanmoins mis en évidence la possibilité de réaliser, à l'échelon du laboratoire, le diagnostic sérologique de ces affections, la méthode E.L.I.S.A. s'avérant dans ce domaine une méthode d'avenir.

5 - Faisant le lien entre la première et la seconde partie de ce travail, les différentes possibilités thérapeutiques et prophylactiques de ces affections dont nous disposons actuellement ont enfin été envisagées :

- en matière de thérapeutique, l'efficacité incontestable des produits utilisés en pratique courante nous a paru largement contre-balancée par leur toxicité indéniable sur les différents organes et leur absence de pouvoir immunigène ne mettant pas ainsi l'animal à l'abri de rechutes.
- en matière de prophylaxie, après utilisation de méthodes prophylactiques qui demeurèrent longtemps exclusivement sanitaires, des méthodes de prophylaxie médicale ont vu le jour, utilisant des procédés d'immunisation soit active soit passive.

Déjà longuement expérimentées chez les Bovins, il nous a semblé intéressant d'essayer de développer et de mettre en pratique ces méthodes de prophylaxie médicale dans l'espèce canine.

II. - Ainsi, après cette étude théorique, nous apportons les résultats de notre travail expérimental personnel.

- Dans un premier temps, notre but était d'essayer de protéger des chiens contre la babésiose par la méthode de chimio-immunisation : il nous a fallu, pour cela, réaliser une infection expérimentale sous le couvert d'un produit à élimination lente, contrairement aux autres babésicides utilisés en clinique courante, l'Imidocarb.

- Dans un deuxième temps, nous avons cherché à réaliser un transfert passif d'immunité sur des chiens neufs à partir de liquides biologiques prélevés sur des chiens immuns : nous avons également l'espoir de pouvoir faire la part, de cette façon, entre les phénomènes humoraux et les phénomènes cellulaires en matière d'immunité anti-babésienne.

Au terme de ces deux expérimentations, nous sommes arrivés aux résultats suivants :

1. la seconde expérimentation semble avoir permis la réalisation d'un transfert passif d'immunité humorale au moyen de plasma immun se traduisant, en fait, seulement par l'expression d'une forme clinique fruste et retardée. En revanche, aucune immunité de nature cellulaire n'a pu être conférée ni au moyen d'extraits ganglionnaires ni au moyen de liquide d'ascite. Mais, conscient du caractère ponctuel de ces résultats, nous nous garderons bien de faire franchir à nos conclusions les limites de ce travail.

2. Il est apparu, en revanche, au terme de la première expérimentation, que l'Imidocarb, produit déjà employé comme préventif et curatif dans les différentes babésioses animales, pouvait parfaitement convenir au procédé de chimio-immunisation dans le cadre de la prophylaxie médicale de la babésiose canine ; le protocole expérimental mis en place nous a montré que seuls l'infection et le traitement pratiqués de façon à peu près simultanée assuraient une protection efficace de l'animal.

Faute de l'existence, pour l'instant, d'un vaccin anti-babésien proprement dit, cette méthode de chimio-immunisation nous a semblé pouvoir trouver une application, en clinique courante, surtout en ce qui concerne les chiens particulièrement réceptifs à cette affection, étant entendu que le protocole exact de vaccination resterait à définir par chaque praticien: néanmoins une vaccination préalable à chaque grande période d'enzootie babésienne nous semble nécessaire et fortement souhaitable pour l'entretien d'une immunité convenable. Il pourrait s'agir en fait :

- soit d'une simple injection d'Imidocarb dans l'attente d'une éventuelle infection naturelle ultérieure.
 - soit d'une véritable chimio-immunisation comportant, comme dans notre expérimentation, à la fois infection expérimentale et traitement chimio-préventif.
-

Vu :

LE DIRECTEUR

de l'École Nationale Vétérinaire de Lyon.

LE PROFESSEUR RESPONSABLE

de l'École Nationale Vétérinaire.

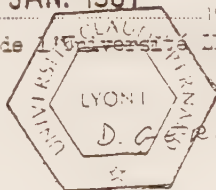
[Signature]
 Vu
 LE DOYEN,

[Signature]
 LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Vu et permis d'imprimer

20 JAN. 1981
 LYON, le 19

Le Président de l'Université LYON I,



B I B L I O G R A P H I E

1. AMBROISE - THOMAS P.

Etude séro-immunologique de deux parasitoses
par les techniques d'immunofluorescence.
Thèse Sci., Lyon, 1969, 644 p., 967 réf.

2. BENEX J.

Diagnostic immunologique des parasitoses à
Protozoaires et Helminthes
Maloine édit., 1974, 212 p.

3. BISHOP J.P., ADAMS L.G.

Combination of thin and thick blood films for
the detection of *Babesia parasitemia*.
Am. J. Vet. Res., 1973, 34-9, 1213-1214.

4. BLOOM B.R.

Games parasites play : how parasites evade immune
surveillance.
Nature, 1979, 279, p. 21-26.

5. BUTTNER D.W.

Vergleichende Untersuchung der Feinstruktur von
Babesia gibsoni und *Babesia canis* Z. Tropenmed.
Parasitol., 1968, 19, 330-342.

6. CALLOW L.L., LLORS L.T.

A new vaccine for *B. argentina* infection, pre-
pared in splenectomised cattle.
Austral. Vet. J., 1966, 42, p. 464-465.

7. CALLOW L.L., Mc GREGOR W., PARKER R.J., DALGLIESH R.J.
The immunity of cattle to *Babesia argentina*
after drug sterilisation of infections of
varying duration.
Austral. Vet. J., 1974, 50, p. 6-11.

8. CALLOW L.L., TAMMEMAGI.
Vaccination against bovine babesiosis.
Austral. Vet. J., 1967, 43, p. 249-256.

9. CHAPPUIS-OLLEON C., FORUNEL-FLEURY C., SAYN M.J.,
LAPRAS M.
Les anémies hémolytiques auto-immunes du chien
(à propos de l'utilisation du test de Coombs et
de l'étude d'un cas d'origine idiopathique).
Bull. Soc. Sci. Vét. et Méd. comp. Lyon 1980,
82, n°4, p. 209-219.

10. CHEISSIN E.M.
Modern trends in soviet protozoology in
Progress in Protozoology Academic Press, 1963,
§6" p. 105 rates (25-30).

11. DORCHIES Ph.
Les phénomènes immunitaires dans la piroplasmose
du chien.
L'animal de compagnie, 1974, n°2, pp. 177-182.

12. ERP E.E., GRAVELY S...., SMITH R.D., RISTIC M.,
OSORNO B., CARSON C.A.
Growth of *Babesia bovis* in bovine erythrocyte
Cultures.
Am. T. Trop. Med. Hyg., 1978, 27 (5), p.1061-1064.

13. EUZEBY J.
Cours magistral de parasitologie. 1977.

14. EUZEBY J., MOREAU Y., DUBOR M., GAUTHEY M.
 Immunologie des babésioses. Essais de chimio-immunisation.
 Bull. Soc. Sci. Vét. Méd. comp., Lyon, 1980,
82, n°3, p. 137-142.

15. EUZEBY J., RANCIEN P., SIMON P.H.
 A propos de l'endémie charollaise de piroplasmose bovine. 3^e note chimio-prévention par un dérivé de la carbaniline, le 4A 66 ou R.H. 2073 (Imidocarb).
 Bull. Soc. Sci. Vét. Méd. comp., Lyon, 1974,
76, p. 423-426.

16. FERIOT A.
 Thérapeutique de la piroplasmose du chien.
 L'animal de compagnie, 1974, n°2, p. 165-174.

17. FOURNIER J.
 Compte rendu d'une enquête épidémiologique sur l'importance et la répartition de la piroplasmose canine en France.
 L'animal de compagnie, 1974, n°2, p. 95-105.

18. HOUBA V.
 Pathophysiology of the immune response to parasites in
 Pathophysiology of parasitic infection Academic Press, 258 p. pp.221-223.

19. JENNINGS F.W.
 Anaemia in Protozoal infections in
 Pathophysiology of parasitic infection Academic Press, 1976, 258 p. pp.52-54.

20. JENSEN J.B., TRAGER N.
Plasmodium falciparum in culture : use of
outdated erythrocytes and description of
the candle jar method.
J. Parasitol., 1977, 63, p. 883-886.
21. JOLIVET G., MARCHAND A.
Le Piroplasma du chien. Aspects taxonomique,
morphologique et biologique.
L'animal de compagnie, 1974, n°2, pp. 125-131.
22. LANGRETH S.G., JENSEN J.B., REESE R.T. and TRAGER W.
Fine culture of Human Malaria *in vitro*.
J. Protozool., 1978, 25 (4), p. 443-452.
23. LAPRAS M., MONIER J.C.
Considérations actuelles et recherches sur les
maladies auto-immunes animales.
Bull. Soc. Sci. Vét. et Méd. comp. Lyon, 1980,
82, n°4, p. 193-208.
24. LEVINE N.D.
Protozoa parasites of domestic animals and of
man.
Burgess Publishing Company. Minneapolis, 1973,
12, 406 p., p. 317-335.
25. LEWIS D., WILLIAMS H.
Infection of the Mongolian gerbil with the
cattle piroplasm, *Babesia divergens*.
Nature, 1979, 278, p. 170-171.
26. MAHONEY D.F.,
Bovine babesiosis : the immunization of cattle
with killed *B. argentina*.
Exp. Paras., 1967, 20, p. 125-129.

27. MAHONEY D.F.

Immune response to hemoprotozoa, in "Immunity to animal parasites".

Academic Press, 1972, 12, 425 p. 301-341.

28. MAHONEY D.F., GOODGER B.V.

Immunogenicity of plasma from infected animals
Exp. Paras., 1972, 32, p. 81-85.

29. MAHONEY D.F., WRIGHT I.G.

The infectivity and immunogenicity of irradiated blood parasites for splenectomised calves.

Intern. J. Paras., 1973, 3, p. 209-217.

30. MEYNARD J.A., GOUDICHAUD J.A.

Piroplasmose canine. Caractères cliniques.

L'animal de compagnie, 1974, n°2, pp. 147-155.

31. MILLER L.H. 1977

A critique of merozoite and sporozoite vaccines in Malaria.

pages 113-120, in L.H. MILLER, J.A. PINO and J. Mc KELVEY

J. eds. Immunity to Blood Parasites of Animals and Man.

Advances in Experimental Medicine and Biology, vol. 93, Plenum Press, New York.

32. MOREAU Y., LAURENT N., SOULA A.

Sérologie de la babésiose du chien par fixation du complément et immuno-enzymologie.

Communication personnelle.

33. MOREAU Y., SOULA A.

Babesia canis : la culture *in vitro* du parasite et son étude ultrastructurale.

Bull. Soc. Sci. Vét. et Méd. comp., Lyon, 1979, 81, n°5, p. 255-261.

34. OUDAR J.
Cours magistral d'immunologie. 1977.

35. PÜRNELL R.E., BROCKLESBY D.W.
Protection of cattle against *B. major* by the
inoculation of irradiated piroplasms.
Res. Vet. Sci., 1978, 25, p. 388-390.

36. PÜRNELL R.E., LEWIS D.
B. major : Protection of intact calves against
homologous challenge by the injection of irradiated piroplasms.
Intern. J. Paras., 1979, 9, p. 17-28.

37. RIEK R.F.
Babesiosis in
Infections Blood Diseases of Man and Animals
D. WEINMAN and M. RISTIC, Academic Press, 1968,
19, 219-268.

38. RISTIC M.
Babesiosis and Theileriosis in
Immunity to parasitic animals
JACKSON G.I., HERMAN R., SINGER I., 1970, 1217 p.
(831-870).

39. ROBIN Y.
Diagnostic de la piroplasmose canine par la
recherche du piroplasme dans le sang. Technique
et résultats de quelques années d'observations.
L'animal de compagnie, 1974, 2, p. 133-143.

40. SERGENT Ed., DONATIEN A., PARROT L. et LESTOQUARD F.
Etudes sur les Piroplasmoses bovines.
ed. Institut Pasteur d'Algérie, Alger 1945, 816p.

41. SERGENT Ed., DONATIEN A., PARROT L., LESTOQUARD F.,
PLANTUREUX E.
Les Piroplasmoses bovines d'Algérie. 2^e mémoire.
Méthodes de prémunition.
Bull. Soc. Path. Ex., 1927, 5, p. 245-468.
42. TRAGER W., JENSEN J.B.
Human malaria parasites in continuous culture.
Science, 1976, 193, p. 674-675.
43. WENYON C.M.
Babesia of dogs in
Protozoology vol. II.
BAILLIERE, TINDALL and CASSEL Ltd, 1965, 1563 p.
(1011-1022).
-

T A B L E D E S M A T I E R E S

	Pages
<u>I N T R O D U C T I O N</u>	2
<u>P R E M I E R E P A R T I E : LES BABESIOSES :</u>	
RAPPELS NOSOLOGIQUES, AGENT PATHOGENE ET	
ASPECT IMMUNOLOGIQUE DE L'INFECTION	
I - RAPPELS NOSOLOGIQUES	7
A - Epidémiologie	7
1 - Carte épidémiologique.	7
2 - Moment d'apparition	8
3 - Type épidémiologique	9
4 - Schéma épidémiologique :	
les vecteurs	10
- Nomenclature - Taxonomie	10
- Morphologie	11
- Anatomie	12
- Biologie	12
. Habitat	12
. Nutrition	13
. Cycle biologique	13
- Pouvoir pathogène	13
B - Etiologie.	14
1 - Sources de parasites	14
2 - Modalités de la contamination	14
3 - Réceptivité.	14
C - Etude clinique et anatomique	15
1 - Symptômes	15
- Période procritique	15
- Période critique	15
- Période métacritique	17
2 - Lésions	17
- Macroscopiques.	17
- Histologiques	17

3 - Diagnostic	17
4 - Pronostic	18
D - Traitement et prophylaxie	19
1 - Traitement	19
- Médicaments utilisés	19
. Traitement symptomatique	
. Traitement spécifique	19
- Résultats et conséquences	20
2 - Prophylaxie	20
- Sanitaire	20
- Médicale	20
II - L'AGENT PATHOGENE	22
A - Taxonomie	23
B - Historique	23
C - Morphologie	24
1 - Techniques d'observation	24
- Réalisation de l'étalement sanguin	24
- Coloration	24
2 - Aspect en étalement sanguin	25
3 - Structure et ultrastructure	26
- Chez l'hôte vertébré (chien)	
. Structure	26
. Ultrastructure	26
- Chez l'hôte invertébré (la tique)	27
D - Biologie	28
1 - Habitat	28
- Chez le chien	28
- Chez la tique	28
2 - Nutrition	29
3 - Spécificité	29
4 - Reproduction	29
- Reproduction sexuée	29
- Multiplication asexuée	29

5 - Cycle évolutif	32
- Chez le chien	32
- Chez la tique	32
E - Physio-pathologie.	34
1 - Pouvoir pathogène	34
2 - Pouvoir toxigène	37
3 - Pouvoir antigène	37
- Découverte	37
- Structure antigénique de <i>Babesia canis</i>	39
F - Conclusions.	42
III - LE POINT DE VUE IMMUNOLOGIQUE	43
A - Origine de l'immunité	45
1 - Découverte de la notion d'immunité	
- Immunité naturelle.	45
- Immunité acquise	46
2 - Facteurs déterminant l'immunité.	47
- Immunité naturelle	47
- Immunité acquise	50
3 - Stade antigéniquement compétent dans l'immunité acquise	51
4 - Variation de la configuration antigénique du parasite dans l'immunité acquise	52
5 - Entretien de l'immunité acquise	53
6 - Conclusion	54
B - Mécanisme de l'immunité	55
1 - Rappels immunologiques	55
2 - Réponse immunitaire à médiation humorale	60
- Nature des anticorps	60
- Détection des anticorps	61
. Intérêt	61
. Méthode de détection	62
+ Fixation du complément.	62
+ Immunofluorescence indirecte	65

+ Réactions d'agglutination	
. CTLA	71
. HAP	73
+ Diffusion sur gélose . . .	75
+ Méthode E.L.I.S.A. . . .	78
- Taux des anticorps	82
- Activité protectrice des anticorps	83
+ Découverte de cette protection	83
+ Caractéristiques de la protection	83
+ Mécanisme intime de la protection	84
- Action babésicide . . .	84
- Action opsonisante . . .	85
- Conclusion	86
3 - Réponse immunitaire à médiation cellulaire	87
- Immunité cellulaire spécifique	87
- Immunité cellulaire non spécifique	88
+ la phagocytose	88
+ Le rôle de la rate	89
+ Conclusion	90
C - Conséquences des phénomènes immunitaires	
1 - Favorables	90
- Immunité résultant d'une infection naturelle	91
- Immunité induite expérimentalement	91
+ Sérumisation	92
+ Vaccination	92
2 - Défavorables	93
- définition et découverte du phénomène	93
- manifestations d'auto-immunité	
+ l'anémie	94
+ la splénomégalie	96
+ l'héماغglutination	96

3 - Conclusion	97
D - Méthodes d'immunisation chez les	
Bovins	97
1 - Immunisation au moyen de parasites	
vivants modifiés	98
2 - Immunisation au moyen de parasites	
tués	99
3 - Orientation actuelle :	
la chimio-immunisation	100
IV - CONCLUSIONS	102
 <u>D E U X I E M E P A R T I E</u> : ESSAIS COMPARATIFS DE LA	
CHIMIO-IMMUNISATION ET DE L'IMMUNISATION PASSIVE DANS	
LA PROPHYLAXIE DE LA BABESIOSE CANINE	103
I - INTRODUCTION.	104
II - PROCEDES DE CULTURE IN VITRO DE BABESIA CANIS .	106
A - But et avantages	107
1 - But	107
2 - Avantages	107
B - Matériel	108
C - Procédés de culture.	109
D - Résultats et discussion.	110
III - PREMIERE EXPERIMENTATION : ANNEE 1978	112
A - Protocole expérimental	112
1 - Principe	112
2 - Moyens d'appréciation de l'évolu-	
tion de l'expérimentation.	114
. Moyens d'analyse qualitative	114
. Moyens d'analyse quantitative.	114
3 - Matériel	115
a - Animaux	115
b - Souche de <i>Babesia</i>	116
c - Matériel d'infection	117
d - médicament chimio-préventif.	117
4 - Protocole expérimental	118
a - Primo-infection.	118
b - Ré-infection	118
5 - Expérimentation proprement dite.	119

B - Résultats	121
1 - Primo-infection	122
a - Evolution clinique.	122
b - Evolution thermique	123
c - Evolution du taux d'infestation babésienne	124
d - Evolution de la formule sanguine (lymphocytes et monocytes)	125
e - Evolution de la sérologie anti- babésienne	126
2 - Réinfection	127
a - Evolution clinique.	127
b - Evolution thermique	129
c - Evolution du taux d'infestation babésienne.	129
d - Evolution de la formule sanguine	130
e - Evolution de la sérologie anti-babésienne	131
C - Discussion	145
D - Conclusion.	147
IV - DEUXIEME EXPERIMENTATION : ANNEE 1979	151
A - Protocole expérimental.	151
1 - Principe	151
2 - Moyens d'appréciation de l'évolution de l'expérimentation	151
3 - Matériel	152
a - Animaux	152
b - Souche de <i>Babesia</i>	152
c - Matériel d'infection	152
d - Produits biologiques de protection	152
4 - Protocole expérimental	154
5 - Expérimentation proprement dite	154
B - Résultats	157
1 - Evolution clinique.	157
2 - Evolution thermique	160
3 - Evolution du taux d'infestation babésienne	161
4 - Evolution de la formule sanguine.	162

5 - Evolution de la sérologie anti- babésienne	.163
6 - Réinfection	.164
C - Discussion	.178
D - Conclusion	.180
<u>C O N C L U S I O N S</u>	.183
<u>B I B L I O G R A P H I E</u>	.186
<u>T A B L E D E S M A T I E R E S</u>	.193

